UNIVERSITE D'AMIENS - FACULTE DE MEDECINE

Année 1974

N° № 34

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES LISTERIOSES

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

Le 5 Juillet 1974

par

Vincent FUENTES

Président du Jury : Mme le Professeur ORFILA
Juges : Mr le Professeur VITSE
: Mr le Professeur PIUSSAN
: Mr le Professeur LEVI-VALENSI

UNIVERSITÉ D'AMIENS - FACULTÉ DE MÉDECINE

Année 1974 N°

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DES LISTERIOSES

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE 2 JUILLET 1974

PAR

Vincent FURETTE

Président du Jury : Monsieur le Professeur [illegible]

Juges : Monsieur le Professeur [illegible]

Monsieur le Professeur [illegible]

Monsieur le Professeur [illegible]

UNIVERSITE D'AMIENS - FACULTE DE MEDECINE

Année 1974 N°

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES LISTERIOSES

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

Le 5 Juillet 1974

par

Vincent FUENTES

Président du Jury : Mme le Professeur ORFILA
Juges : Mr le Professeur VITSE
: Mr le Professeur PIUSSAN
: Mr le Professeur LEVI-VALENSI

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551520_0010

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Madame le Professeur ORFILA
Professeur titulaire de la chaire de Bactériologie, de Virologie et d'Immunologie générale
Biologiste des Hôpitaux
Officier des Palmes Académiques

Vous nous avez fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Vous nous en avez inspiré le sujet.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur VITSE
Professeur titulaire de clinique obstétricale
et gynécologique
Accoucheur des Hôpitaux
Chef de Service

Nous vous remercions de l'intérêt que vous avez porté à notre travail en acceptant de le juger.

Nous vous assurons de notre déférence.

Monsieur le Professeur PIUSSAN
Maître de Conférence
Agrégé de Pédiatrie
Médecin des Hôpitaux

Vous avez bien voulu honorer de votre présence la soutenance de cette thèse.

Permettez nous de vous exprimer toute notre gratitude et tout notre respect.

Monsieur le Professeur LEVI-VALENSI
Professeur sans chaire de Pneumophtisiologie
Médecin des Hôpitaux
Chef de Service
Croix de la valeur militaire

Vous avez bien voulu nous faire l'honneur de participer au jury de cette thèse.

Soyez assuré de notre profond respect.

INTRODUCTION

Listeria monocytogènes suscite actuellement de nombreux travaux.

Il est responsable d'infections graves chez l'individu dont les défenses immunitaires sont faibles, et particulièrement chez le foetus où on le retrouve avec une certaine fréquence. Si ces infections sont de plus en plus souvent détectées, il persiste des problèmes diagnostiques puisque l'isolement du germe est encore nécessaire pour affirmer sa présence.

Les mécanismes de défense de l'hôte sont d'ordre cellulaire, et les recherches effectuées avec Listeria monocytogènes constituent une part non négligeable dans l'édification de cette branche de l'immunologie.

Les quelques observations recueillies dans le CHU d'Amiens sur une période d'un an, nous ont incité à faire le point sur certains travaux récents, tant sur le plan bactériologique, épidémiologique, clinique, diagnostique, que sur celui de l'immunité vis à vis de ce germe.

PLAN D'ETUDES

1ère Partie

I - Observations

II - Commentaires

2ème Partie

I - Etude bactériologique

A) - Morphologie et structure

B) - Culture

C) - Classification

D) - Etude de la structure antigénique

II - Etude épidémiologique

- Réservoirs
- Mode de contamination
- Pouvoir pathogène expérimental

III - Physiopathologie de l'infection

- Description
- Le germe
  - capacité d'évasion
  - toxines
  - formes L.
- L'hôte

1°) Immunité à médiation cellulaire : étude générale

- les cellules immunitaires
- les phénomènes de coopération dans la réponse immunitaire

2°) Le problème de l'immunité à l'infection listérienne

- durée de vie et dynamique de circulation du lymphocyte immunologiquement compétent
- migration des lymphocytes activés vers les exsudats inflammatoires
- circulation du lymphocyte à partir du sang vers la cavité péritonéale
- coopération entre lymphocytes et phagocytes mononucléaires
- conclusion.

IV - Etude clinique

- Chez l'adulte
- Chez la femme enceinte
- Infection néonatale

V - Diagnostic biologique

- Isolement
- Diagnostic sérologique
  - agglutination
  - autres méthodes
  - immunofluorescence - méthodes et spécificité

VI - Prophylaxie et traitement

- Vaccination
- Traitement.

I - OBSERVATIONS

Observation N° 1 - M. Georges S... 25 Septembre 72 -

Cet homme de 74 ans, emphysémateux depuis une vingtaine d'années avait été hospitalisé pour une volumineuse adénopathie de la chaine latérocarotidienne. Son bilan biologique indiquait une accélération de la vitesse de sédimentation à 100 à la première heure, une formule sanguine normale, et, au protidogramme, une augmentation des alpha-deux à 16% et des bétaprotéines à 15% avec un dosage des protides totaux à 95 g/l. La ponction ganglionnaire s'avérait purulente avec de nombreux polynucléaires altérés et montrait à la culture de rares colonies de Listeria monocytogenes type 4.

En fait, il s'agissait d'une surinfection d'adénopathie néoplasique. Ce malade présentait un épithélioma épidermoïde du bas oesophage, comme devait le révéler le transit oeso-gastro-duodénal et la biopsie oesophagienne pratiquée par la suite. Le décès survenait un mois plus tard. (septicémie à Candida).

-:-:-

Observation N° 2 - Mme Annie A... 25 Juillet 72 -

Il s'agit d'une jeune femme de 23 ans, multipare, ayant eu deux premières grossesses normales, et qui présente au huitième mois de sa troisième grossesse, un syndrome grippal, accompagné de douleurs lombaires d'un pseudo-ictère et d'une température à 38°5. Quinze jours après cet épisode infectieux, elle accouchait d'une fille de 2 500 g semblant normale à la naissance, mais chez laquelle apparaissait au bout de 48 heures, une hypotonie, accompagnée d'un purpura important, d'un ictère et d'une hépatomégalie. L'enfant décédait 24 heures plus tard.

Le laboratoire isola Listeria monocytogenes type 4, au niveau du liquide céphalorachidien, de l'oreille, du nez, de l'estomac, et des yeux de l'enfant. Le prélèvement vaginal de la mère ne montra aucun germe pathogène et un interrogatoire précis ne révéla aucune notion de contage par des animaux domestiques.

Par contre, un sérodiagnostique par technique d'agglutination sur lame se révéla positif au taux de 1/1600 avec l'antigène 4 b (technique de Difco) et de 1/800 (technique de Behring).

-:-:-

Observation N° 3 - Mme Lysiane M... 31 Juillet 72 -

Traitée pour stérilité depuis cinq ans, cette jeune femme accouchait prématurément à 6 mois d'une fille qui vécut 24 heures, et qui présentait uniquement une éruption pustuleuse au niveau du dos. Le liquide amniotique était teinté.

L'interrogatoire précisait que Mme M... travaillait dans une fabrique de cage et d'aquarium à Péronne, et qu'au troisième mois de sa grossesse, elle avait eu un simple rhume apyrétique.

On isolait Listeria monocytogenes type 4 des prélèvements gastrique, pharyngé et vulvaire de l'enfant. L'hémoculture et les prélèvements placentaires étaient également positifs, alors que les prélèvements oculaires et cutanés étaient eux négatifs.

Le sérodiagnostic ultérieur de Mme M..., effectué par les méthodes précédentes d'agglutination sur lame était négatif.

-:-:-

Observation N° 4 - Mme Marie S... 29 Juillet 72 -

Cette jeune femme de 27 ans, habitant également la région de Péronne, avait déjà eu deux grossesses normales. Elle accouchait prématurément à 7 mois d'une fille présentant immédiatement des difficultés respiratoires.

Chez l'enfant, on isola Listeria monocytogenes type 4, à partir des prélèvements gastrique, pharyngé, rectal, de LCR et du cordon. Chez la mère, les prélèvements vaginaux restaient négatifs. Le sérodiagnostic, selon les techniques précédentes, restait également négatif.

On ne relevait pas de notion de contage ni de syndrome fébrile au cours de la grossesse.

-:-:-

Observation N° 5 - Mme Sylviane H... 24 Novembre 72 -

Il s'agit d'une primigeste. Dix jours avant l'accouchement, elle présentait un syndrome fébrile avec infection rhinopharyngée. Les examens biologiques confirmaient ce tableau : 19 500 globules blancs à la numération formule sanguine, dont 90% de polynucléaires ; de nombreux polynucléaires altérés au culot urinaire. Mais on ne pouvait isoler de germe de l'hémoculture et du prélèvement de gorge.

A sept mois et demi, elle accouchait d'un enfant mort né, chez lequel on ne retrouvait pas d'ascite, mais une petite hépatomégalie. Le liquide amniotique était teinté, abondant.

On isolait Listeria monocytogènes type 4 du cordon, du placenta

et du liquide amniotique où le germe pullulait. Chez le foetus, on le retrouvait dans la gorge, le nez et le rectum.

Le sérodiagnostic, pratiqué ultérieurement selon les techniques précédentes était négatif.

-:-:-

Observation N° 6 - Mme Françoise A... 17 Octobre 72 -

Abortum à deux mois et demi de grossesse chez cette femme qui venait de présenter un syndrome infectieux fébrile. Du prélèvement vaginal on isolait quelques colonies de Klebsielles, des urines quelques Escherichia Coli. L'hémoculture restait négative. Par contre, Listeria monocytogenes type 4 était isolé à la culture, à partir de prélèvements placentaires.

Le sérodiagnostic, pratiqué ultérieurement selon les techniques précédentes était négatif.

Ici non plus, on ne relevait pas de notion de contage.

-:-:-

Observation N° 7 - Mme Ghislaine V... 10 Mars 72 -

Abortum également à quatre mois, chez cette femme hospitalisée pour syndrome infectieux. On isola Listeria monocytogenes type 4, à l'hémoculture et au niveau du placenta.

Le sérodiagnostic, pratiqué par la suite, selon les mêmes techniques, était négatif.

Observation N° 8 - Mme Aïcha B... 18 Septembre 72 -

Cette dame accouchait prématurément à huit mois, d'un enfant mort né, qui présentait une ascite. On notait, à l'interrogatoire, un épisode infectieux fébrile vers le cinquième mois. Les cultures, à partir de prélèvements d'urines et de lochies étaient négatives. Par contre, on isolait Listeria monocytogenes type 4, à partir du liquide amniotique, du placenta, de la gorge, de l'anus de la vulve, et du liquide d'ascite.

Ici aussi, le sérodiagnostic, effectué selon les mêmes méthodes demeurait négatif.

Observations	2	3	4	5	6	7	8	Rapport (+)
Antécédents	Multipare	Primipare	Multipare	Primipare	/	Abortum	/	
Accouchements	8,5 mois	6 mois	7 mois	7,5 mois	2,5 mois	4 mois	8 mois	
Prélèvement vaginal chez la mère	-	/	-	/	-	/	/	0/3
Hémoculture	/	/	/	-	-	/	+	1/3
Syndrome infectieux fébrile avant l'accouchement	15 j.	simple rhume 3e mois	pas de notion	10 j.	contemporain	contemporain	3 mois	5/7
Sérodiagnostic	+	-	-	-	-	-	-	1/7
Prélèvement pharyngé	+	+	+	+	/	/	+	5/5
Prélèvement placentaire	-	+	-	+	+	+	+	5/7
Evolution	décès 24 h	décès 24 h	décès immédiat	mort né	mort né	mort né	mort né	

II - COMMENTAIRES

Ces observations sont trop peu nombreuses pour que nous puissions en tirer quelque conclusion. Nous pouvons du moins essayer de les insérer dans le cadre général des études diagnostiques, cliniques et biologiques effectuées à ce jour.

. Ainsi la première observation illustre parfaitement le rôle de Listeria monocytogenes en tant qu'agent infectieux opportuniste. Le germe trouve chez un sujet aux défenses immunitaires affaiblies un terrain de choix. Sa localisation dans un ganglion métastatique, répond au fait que l'immunité vis à vis du germe est de type cellulaire. Cette observation s'aligne sur celles de Simpson qui, nous le verrons, a décrit des listérioses chez des patients porteurs de maladie de Hodgkin et de leucoses.

. Les sept autres observations entrent dans le cadre de la listériose de la femme enceinte.

Nous n'avons pas retrouvé de notion épidémiologique, sauf peut être pour les observations trois et quatre, où l'on note à la fois une coïncidence géographique et saisonnière.

Chez la mère, cinq fois sur sept, on a pu relever un syndrome infectieux pseudogrippal.

Les tentatives d'isolement du germe ont le plus souvent été négatives : tous les prélèvements vaginaux et urinaires effectués ont été négatifs. L'hémoculture a été positive une fois sur trois. Mais c'est la sérologie qui s'est révélée la plus décevante ; du moins avec les techniques utilisées : elle n'a été positive qu'une fois sur sept. Ce n'est donc pas un examen sur lequel on peut compter.

Chez l'enfant, il s'agissait dans les observations deux, trois et

quatre de listériose néonatale précoce. L'évolution a malheureusement confirmé la gravité de cette forme. Nous y avons retrouvé les signes décrits par Hension et Hummel : ictère, purpura, signes neuroméningés, hépatomégalie, détresse respiratoire, éruption cutanée.

Les divers prélèvements ont confirmé l'intérêt de la recherche du germe au niveau du placenta (positifs dans cinq cas sur sept) et du rhino-pharynx (positifs dans tous les cas).

ETUDE BACTERIOLOGIQUE

A - MORPHOLOGIE ET STRUCTURE -

1 - MORPHOLOGIE -

Listeria monocytogenes est un germe gram + ne sporulant pas, assez court (1 à 2 microns de long pour 0,5 de large), à bouts arrondis ou légèrement effilés, que l'on confond facilement avec un entérocoque. C'est un germe habituellement considéré comme acapsulé.

Il n'a pas de groupement caractéristique :

Dans les produits pathologiques, lorsqu'il est extracellulaire, il se présente comme un bâtonnet trapu isolé ou en petit amas. Dans le cytoplasme des mononucléaires, ce sont des bâtonnets en amas enchevêtrés dans une vacuole.

En culture, il peut adopter le groupement des corynébactéries, en palissade, mais aussi se grouper par paires ou en courtes chaînettes de trois à huit éléments assez semblables au streptocoque D.

Les germes des cultures jeunes sont gram +. Ce sont souvent des formes coccoïdes. Cependant si on prolonge le temps de décoloration, la moitié des germes deviennent gram -. Les cultures âgées présentent une prédominance de formes filamenteuses (200 à 300 microns de long), soit à gram + , soit à gram - . Cependant, à la différence des corynébactéries, on n'observe jamais d'aspect tigré et il n'y a pas de granulations métachromatiques.

2 - STRUCTURE -

- Flagelles -

Germe immobile à 37°C, Listeria monocytogenes possède une mobilité très particulière à la température ambiante : mobilité dite en pirouette. Elle est due à la présence de flagelles péritriches ou subterminaux. Il existe quatre flagelles en moyenne (un seul à 37°C et qui n'est jamais polaire). Ceci est un caractère fondamental pour le différencier des Erysipelothrix et de la plupart des corynébactéries. Au point de vue chimique (78), ils sont constitués de flagelline, protéine polymérique, que l'on peut dissocier par acidification en monomère ayant un poids moléculaire d'environ 40.000. Cette protéine fait partie du groupe des scléroprotéines, comme la kératine ou la myosine. Elle possède une double configuration en hélice alpha et de type béta supercontracté.

- Paroi -

Listeria monocytogenes possède une paroi peu résistante aux agents mécaniques et à la trypsine ainsi qu'aux nucléases, contrairement aux autres germes gram + . Siddique et Srivastava (84) l'ont étudié au point de vue chimique et l'ont comparé au cytoplasme. Ils ont utilisé pour cela une souche hautement virulente isolée à Halle, en Allemagne de l'Est. Le procédé de préparation consiste en une "déflagellation" selon la méthode de Seeliger. Puis les cellules "bouillies" sont lavées 2 fois et rompues à haute pression et basse température, suivant le diagramme.

Listeria (croissance sur TSB), 21 j., 37°C
16.300 g. 50 mn 4°C

Surnageant écarté

Sédiment (SED), mis en suspension dans une solution saline 16.500 g. 30 mn, 4°C. Lavage des cellules 2 fois -

Surnageant écarté

SED, mis en suspension dans une solution saline. Chauffage dans un bain d'eau bouillante 60 mn, 16.300 g. 30 mn, 4°C. Lavage des cellules bouillies 2 fois -

Surnageant écarté

SED, mis en suspension dans une solution saline . Rupture des cellules à 20.000 psi. 5-10°C - 7.710g. 30 mn, 4°C

Surnageant gardé

SED mis en suspension dans une solution saline. Rupture à 20.000 psi - 5-10°C - 7.710 g. 30 mn 4°C

SED écarté

Surnageant mis en commun avec le surnageant gardé plus haut
30.900 g. 30 mn 4°C

SED mis en suspension en solution saline. Rupture à 20.000 psi. 5-10°C. Matériel écrasé gardé

Surnageant filtré sur millipore = cytoplasme -

SED, mis en suspension saline. Mélangé avec le matériel écrasé gardé plus haut = cell walls (paroi)

Ils déterminent ensuite la composition chimique de la paroi et du cytoplasme de Listeria monocytogenes (contenu moyen en % de poids).

	Paroi	Cytoplasme
Hydrates de carbone (procédé de Dische)	11, 04 (3)	ND
Heptose (procédé de Osborn)	0, 25 (4)	ND
Hexose (procédé de Scott et Melvin)	7, 38 (3)	5, 09 (3)
Hexosamine (procédé de Rimington)	3, 16 (2)	0, 86 (2)
Methylpentose (procédé de Dische et Shettles)	2, 17 (2)	0, 58 (2)
2 céto-3-désoxyoctanate (K. D. O.) (procédé de Anacker)	1, 95 (4)	ND
Didesoxyhexose (procédé de Anacker)	0, 07 (2)	ND
Protéines (procédé de Lowry)	22, 91 (4)	1, 50 (3)
Phosphore (procédé de Dryer)	2, 56 (3)	ND
Lipides (méthode de Snyder et Stephen)	16, 67 (3)	19, 50 (3)
Acides nucléiques (procédé de Volkin et Cohen)	ND	18, 29 (3)

Les chiffres entre parenthèses représentent les nombres de mesures.

ND : mesure non effectuée.

Les protéines présentes dans la paroi sont constituées à partir de 16 acides aminés. L'hydrolysat d'un échantillon de paroi de 1,5 mg par HCl 6N, pendant 18 h à 110°C en tube scellé, est décomposé par chromatographie sur colonne (Résine polystyrène sulfonée - Tampon citrate de soude). Les acides aminés ont été identifiés sur la base d'acides aminés connus qui ont migré dans des conditions identiques sur la même colonne. La quantité, exprimée en micromoles pour 1,5 mg d'hydrolysat, de chaque acide aminé a été calculée en utilisant des constantes connues.

Par chromatographie sur courte colonne (9 cm), en présence d'un tampon à pH 5,25, on identifie les acides aminés basiques :

Lysine	*0,108 p. mole (1,5 mg)*
Histidine	*0,032*
Ammoniaque	*ND*
Arginine	*0,116*

Sur longue colonne (60 cm), avec un tampon pH 3,28 puis à pH 4,25 :

. *Acide Aspartique*	*0,363*
. *Thréonine*	*0,180*
. *Sérine*	*0,144*
. *Acide glutamique*	*0,430*
. *Proline*	*0,116*
. *Glycine*	*0,282*
. *Alanine*	*0,422*
. *Valine*	*0,226*
. *Mathionine*	*0,160*
. *Isoleucine*	*0,184*
. *Leucine*	*0,250*
. *Tyrosine*	*0,092*
. *Phénylalanine*	*0,140*

16 acides aminés ont été identifiés. L'ammoniaque a été formé durant le processus d'hydrolyse par désamination de la glutamine et de l'Asparagine.

Ces résultats démontrent que la paroi isolée contient des hydrates de carbone, KDO, heptose, hexosamine, des lipides et des protéines constituées de 16 acides aminés. Le cytoplasme contient des hydrates de carbone, des protéines, des lipides et des acides nucléiques. Il est intéressant de noter que KDO, heptose et dideso-xyhexose qui sont présents dans les endotoxines des gram -, sont également présents dans la paroi de Listeria monocytogenes, mais en plus petite quantité.

- Membranes -

Des formes L. ont été facilement obtenues par culture en présence de doses sublétales de pénicilline (36).

La membrane, comme celles de la plupart des gram +, possède des mésosomes. Elle est complexe : formée de 3 couches denses, mesurant chacune de 15 à 35 Å, alternant avec deux zones claires de 30 Å de large, elle est continuée par un système de membranes internes, de taille et de formes variables, situées dans le cytoplasme et l'aire nucléaire.

A partir de protoplastes lysés, Ghosh et Murray (22) ont pu fractionner la membrane par gradient de densité en présence d'un polysucrose (Ficoll).

a) Visuellement, ils ont pu reconnaître cinq zones :

- la première zone se divise en deux fractions :

1-a faite d'une solution cytoplasmique amorphe

1-b d'un mélange de particules : particules légères sensibles à la lipase et composées de 6 sous-unités structurales ; particules lourdes sensibles à la ribonucléase et dépourvues de structure fine.

- la deuxième zone est composée de tubules et de vésicules contenant des composants cytoplasmiques (c'est la fraction 2) -

- la troisième zone, de vésicules vides et de fantômes cellulaires (c'est la fraction 3) -

- la quatrième zone a une morphologie identique à la troisième zone (fraction 3 a) -

- la cinquième zone est la plus chargée. Elle est faite d'un mélange de particules sans aucune sous-structure et de protoplastes en partie lysés (c'est la fraction 4) -

b) Chimiquement les fractions 1-b et 4 sont les plus riches en acides nucléiques.

ARN	1 b	: 11,4 %	ADN	1 b	: 5,1 %
	4	: 9,4 %		4	: 4,8 %

La fraction 1 b est la plus riche en protéines.

c) La membrane est riche en ferments respiratoires :

. la fraction 1 a contient une G 6 P deshydrogénase.

. la fraction 3 une ATP ase
NAD ase

. la fraction 2 une réductase des sels de tétrazolium. On retrouve souvent cet enzyme au niveau des mésosomes. Les vésicules de la fraction 3, souvent tubulaires sont d'ailleurs d'origine mésosomiale, contrairement aux vésicules de la fraction 3, toujours sphériques, qui représentent la plus grande partie de la membrane cytoplasmique.

Les fractions 2 et 3 contiennent des phospholipides.

B - CULTURE

- En milieu liquide Listeria monocytogenes pousse assez lentement. Ce n'est qu'après 24 à 48 h d'incubation à 37°C, que le milieu se trouble de façon homogène. La croissance est plus rapide en présence d'hydrates de carbone. Comme pour les autres germes, les souches de type S. sédimentent au fond du tube, après plusieurs jours d'incubation, sous forme d'un mince sédiment qui se disperse difficilement par agitation. Les souches de type R, ont une croissance floconneuse et forment un sédiment grumeleux au fond du tube en 24 h.

Il faut noter que la vitesse de croissance dépend de l'importance de l'inoculum. Avec un petit inoculum, la croissance est retardée de plusieurs jours. Ceci est important pour l'isolement à partir de matériel pathologique.

- Sur gélose nutritive, après 24 h d'étuve à 37°C, le germe donne de petites colonies rondes, lisses, gris-bleuté en transillumination oblique selon la technique de Henry. Elles ne sont jamais irisées et sont très caractéristiques.

Au bout de 5 à 10 jours, ces colonies peuvent se dissocier en colonies R (Rough) : les germes y sont le plus souvent gram + ou gram - autoagglutinables et non pathogènes pour le lapin.

- Sur gélose au sang, Listeria monocytogenes donne avec les globules rouges de mammifères, une homolyse de type béta.

- Listeria monocytogenes est un germe aéro-anaérobie, plus précisément microaérophile. On met ceci en évidence, en gélose molle, par piqûre centrale. On constate que le trouble est uniforme le long de la piqûre, sauf à quelques millimètres sous la surface, où il est beaucoup plus intense.

- Listeria monocytogenes est peu exigeant sur les conditions de température. Il se multiplie de trois à quarante cinq degrés. La pasteurisation haute (15 secondes à 80°C) suffit pour tuer le germe. La pasteurisation basse (35 minutes à 61°7) est insuffisante.

- Le germe est également peu exigeant sur les conditions de pH. Il pousse de pH 5, 6 à pH 9, 6. Il peut également se cultiver en présence de concentration de Na Cl atteignant 10 %, de bile à 40 %. Nous verrons que tout ceci conditionne l'épidémiologie du germe. C'est d'ailleurs un germe qui peut se cultiver sur milieu synthétique, relativement simple, à condition d'ajouter, outre les acides aminés essentiels, du glucose, des vitamines du groupe B, des sels minéraux (Mg^{++} PO_4^{---} K^{+}).

- Caractères biochimiques.

Ce germe est catalase +, oxydase -, caractère important qui permet de le différencier des entérocoques, et possède une deshydrogénase capable de réduire le chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium.

Il est aussi nitrate -, H2S -, indol -.

Il n'est pas protéolytique. Le sérum coagulé n'est pas liquéfié. La gélatine ne l'est pas non plus. L'urée n'est pas hydrolysée, contrairement à l'arginine, qui l'est avec production d'ammoniaque.

Il a un pouvoir glucidolytique modéré : il fermente sans production de gaz le glucose, le maltose, le levulose, le tréhalose, l'esculine et la salicine à la différence des corynébactéries. Par contre, il ne fermente pas le mannitol à la différence des entérocoques, le dulcitol, l'adonitol, l'inositol.

Il existe un mutant, Listeria murrayi (94) qui fermente le mannitol et qui est nitrate +.

C - CLASSIFICATION

1/ - Selon la classification (77) du Bergey's Manual of determination Bacteriology 1957, Listeria monocytogenes appartient à l'ordre des Eubacteriales, famille XII, des Corynebacteriaceae. Cette famille est composée de Bacilles gram +, souvent renflés, en forme de massue. Les cellules tendent à se ranger en palissades. Elles ne font pas fermenter les sucres. Elles sont le plus souvent immobiles. Cette famille comprend :

1°/ - Des germes pathogènes :

. Immobiles	: Corynebacterium diphteriae
. Mobiles. Agents d'une monocytose	: Listeria monocytogenes
. Immobiles, formant de longs filaments	: Erysipelothrix.

2°/ - Des germes non pathogènes - saprophytes - tels :

. Microbacterium, que l'on trouve dans les produits laitiers et qui forme de l'acide lactique.

. Cellulomonas, que l'on trouve dans le sol et qui décompose la cellulose.

. Arthrobacter dont les cellules présentent un bourgeonnement rudimentaire.

2/ - Selon Prevost, Listeria monocytogenes appartient à l'ordre des Actinomycétales et à la famille des Actinomycetaceae de même que Erysipelothrix, Actinobacterium, Corynebacterium, Nocardia, Actinomyces.

On voit donc que l'accord n'est pas fait sur ce sujet.

Davis (13) appliquant l'analyse adansonienne, portant sur 199 caractères, trouva que Listeria monocytogenes était plus proche de la famille des Lactobacillaceae que de certains membres des Corynebacteriaceae.

D - ETUDE DE LA STRUCTURE ANTIGENIQUE

Nous verrons plus loin l'importance que la structure antigénique revêt pour le diagnostic à posteriori des infections à Listeria et pour les enquêtes épidémiologiques.

. Historiquement, Julianelle et Pons, divisèrent les premiers, le genre Listeria en deux groupes, suivant l'animal chez lequel ils l'avaient isolé : le type I des rongeurs et le type II des ruminants.

. Selon une méthode proche de celle de Kaufmann et White, par agglutination, Paterson a décrit quatre sérotypes en fonction des antigènes somatiques et flagellaires.

Seeliger a divisé le type 4 en 4 a et 4 b, en fonction des antigènes somatiques.

La classification actuelle est donnée dans le tableau suivant (12) :

Sérotype	Antigène 0	Antigène H	Antigène spécifique du sérotype
1 a	I, II, (III)	A, B	I
1 b	I, II, (III)	A, B, C	C
2	I, II, (III)	B, D	D
3 a	II, (III), IV	A, B	IV
3 b	II, III, IV	A, B, C	C
4 a	(III), (V), VII, IX	A, B, C	IX
4 b	(III), V, VI	A, B, C	VI
4 c	(III), V, VII	A, B, C	VII
4 ab	(III), V, VI, VII, IX	A, B, C	VI, IX
4 d	(III), VI, VIII	A, B, C	VIII
4 c	(III), V, VI, VIII, IX	A, B, C	V, VI, VIII, IX

De ce tableau on peut conclure que le type 2 est caractérisé par l'antigène flagellaire D.

Les types 1, 3 et 4 se différencient par leurs antigènes somatiques.

Actuellement, dans toutes les publications, les études sont faites selon la classification de Seeliger.

. Des études très fines en microscopie électronique, sur le localisation des antigènes somatiques, ont été effectuées par la méthode des globulines marquées à la ferritine.

- Dans une première étude, Konstantinova, Shlygina (31) montrent, d'abord sur des germes entiers, que les anticorps marqués se fixent directement sur la surface de la paroi cellulaire, sur les fibrilles. Ensuite, sur des germes lysés, et des cellules désintégrées en présence de lysozyme, que, ces anticorps marqués se fixent également à l'intérieur de la paroi listérienne. Ils supposent que les sites antigéniques sont possédés par des substances de nature protéinopolysaccharidique formant l'épaisseur entière de la paroi, mais aussi par des mucopeptides, apparemment localisés dans la portion interne de la paroi listérienne.

- Dans une seconde étude (79), plus précise, ces auteurs étudient la localisation des anticorps marqués sur une Listeria de sérotype 3 a qui possède des antigènes somatiques II, III et IV. Ces facteurs sont localisés sur toute la surface de la paroi bactérienne, comme c'est le cas du facteur II, et aussi sous la forme de paquets, localisés en aires individuelles : c'est le cas pour les facteurs III et IV. Les facteurs II et IV constituent la masse principale de l'antigène somatique.

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

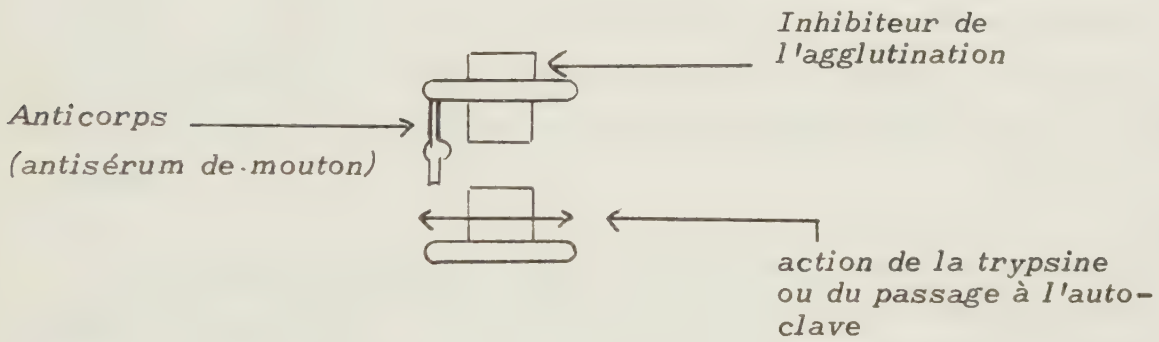
- D'autre part, Osebold et Aalund (59), ont mis en évidence, un inhibiteur, de l'agglutination dans les expériences suivantes :

1. Cellules tuées par chauffage + Antisérum de mouton --> pas d'agglutination

2. Cellules tuées par chauffage + Antisérum de mouton + sérum anti-mouton (lapin) --> agglutination

3. Cellules tuées par chauffage + passage à l'autoclave + Antisérum de mouton --> ou traitement à la trypsine.

L'explication se résume de la façon suivante :



Un composant de nature polypeptique serait dénaturé, "activé" par la chaleur, et adopterait alors une configuration telle, que, bien que n'empêchant pas l'antisérum de se fixer sur les sites antigéniques, il empêcherait l'agglutination de se produire.

Listeria monocytogenes est un germe ubiquitaire, commensal et saprophyte. On le trouve partout dans la nature ; dans le sol, où, apporté par l'herbe, il est capable de résister plus de 6 mois, pourvu que le pH du sol soit supérieur à 5, 6 (55) ; dans les fourrages et ensilages, où il est susceptible de se multiplier et de provoquer aussi des pseudo-épidémies, particulièrement dans les exploitations modernes nourrissant leurs animaux avec des rations à base d'ensilage de maïs. Dans le fumier, Listeria monocytogenes résiste 3 mois.

Selon Petermann et Weingartner (61), la listériose apparaît dans des régions présentant un certain sol (terres noires). Ceci semble surtout lié aux facteurs favorisants, tels l'habitat rural, le contact des animaux domestiques, le travail aux champs et à l'étable. Selon ces auteurs les baignades en lacs et rivières sont également des facteurs favorisants.

La listériose humaine est très largement répandue à la surface du globe. Il semblerait que les régions tropicales soient moins touchées. Diop et Baylet (17) ont fait le bilan des recherches cliniques et épidémiologiques de l'infection listérienne au Sénégal, et il apparaît aussi que le type I y serait plus fréquent que le type IV (5, 6). En Europe et en Amérique, où la maladie est beaucoup plus fréquente, le type IV b est dominant.

Pays	Auteur	Population	titre	% de +
Allemagne	Pösche Schmid	504 femmes enceintes	Antigène O 60	24, 2 %
U. S. A.	Osebold		50 (4g formolé)	5, 3 %
Suède	Winblad	240 donneurs de sang	64	13 %
		2 271 femmes enceintes	64	21, 9 %
	Sandow	5 257 quelconques	100	17, 79 %
			100	0, 75 %

La listériose humaine semble en augmentation, et quant à son extension mondiale, et quant à sa fréquence (12). Mais ceci est pour une grande part en relation avec la recherche de plus en plus systématique de cette maladie.

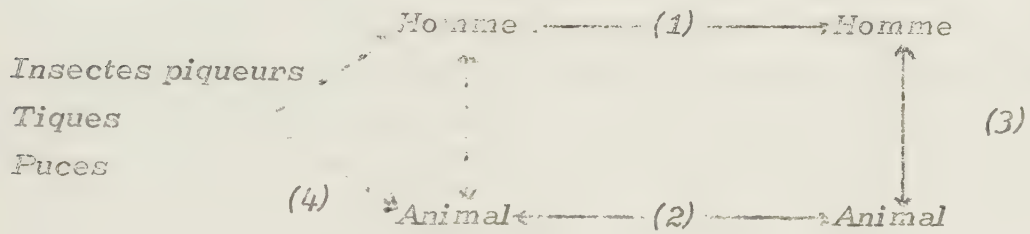
La listériose est également présente chez l'animal sauvage et l'animal domestique. Chez l'animal domestique, essentiellement les ovins et les bovins, la similitude avec la maladie humaine est très grande. Les plus touchés sont les ovins sous la forme d'une méningo-encéphalite. Les bovins présentent une forme voisine de la rage. Sur 260 cerveaux, prélevés pour la recherche des virus, on a relevé 21 cas de listériose (92). Le porc est aussi atteint (64).

Chez l'animal sauvage, où la maladie revêt plutôt une forme septicémique, plusieurs espèces sont sensibles : les oiseaux, (65), les chinchillas, les renards, les rongeurs d'Europe, les poissons (26). Les puces (1) et les tiques (66) sont des porteurs sains, vecteurs.

Les produits animaux sont également susceptibles d'être des réservoirs : les oeufs, le lait, les viandes (48). On peut aussi isoler le germe du liquide amniotique, du placenta, du liquide céphalorachidien, du cerveau. D'une manière générale, Listeria monocytogenes est présent dans toutes les sécrétions et excrétions de l'animal infesté.

Burdin (12), rapporte que, en France, près de 400 cas ont fait l'objet de publications et plus de la moitié depuis 1965. Entre 1950 et 1966, on a décelé 2 004 cas humains et 3 173 cas animaux, bactériologiquement (26). La listériose apparaît chez l'homme sous forme de cas sporadiques (de véritables épidémies ont eu lieu en Allemagne : 279 cas en 1966 dans le district de Halle). D'où l'intérêt de la recherche systématique des anticorps, d'interprétation difficile, à cause de l'absence de standardisation des méthodes et des réactions croisées.

Si le lien entre le réservoir animal et la maladie humaine est manifeste, comme l'ont démontré les travaux précédents, le maximum de fréquence chez l'animal se situe en février, avril, chez l'homme deux mois plus tard. Le mode de contamination est assez obscur. Il peut ainsi s'agir d'une contamination directe, sans doute la moins fréquente. On a proposé le schéma suivant (48, 49) :



La contamination interhumaine (1) est évidente dans le cas de la transmission de la mère à l'enfant. La contamination vénérienne n'a pu être prouvée formellement. Le rôle des sages femmes a été démontré par Ortel (58) parmi les porteurs sains.

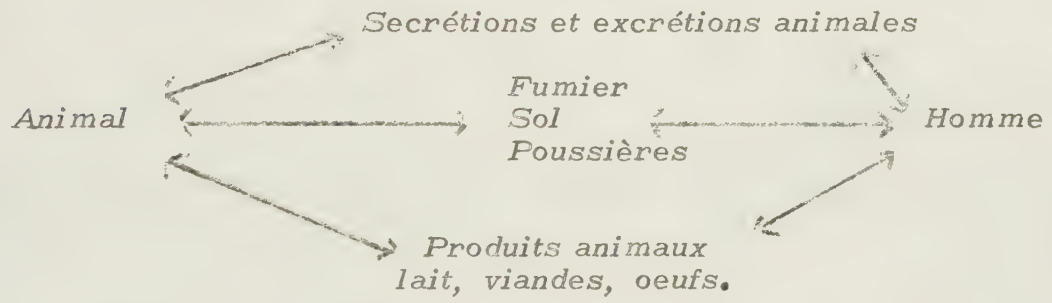
Chez l'animal, l'étude faite par Pustovaja (65), sur la transmission entre oiseaux de basse-cour, a déterminé que la listériose pouvait parfois atteindre 20 à 30 % des animaux (2).

La transmission de l'animal à l'homme (3) a pu être démontrée statistiquement par Ralovich (69) qui a mis en évidence Listeria monocytogenes dans les selles de travailleurs des abattoirs avec une fréquence significative, au moyen de la méthode d'agglutination et de fixation du complément. Seeliger (75) n'avait pu obtenir de verdict sérologique pour les professions exposées telles que vétérinaires, bouchers et gardiens d'animaux. Son expérience portait sur 800 sérums humains, principalement de sujets bien portant, mais aussi de plusieurs individus malades qui n'étaient pas suspects de souffrir de listériose. Par ailleurs,

il n'a pas trouvé de différence significative dans la distribution des titres entre population urbaine et population rurale.

Le rôle d'insectes vecteurs (4) a pu être également démontré. Expérimentalement, les puces contaminées (1) éliminent des germes dans leurs excréments pendant une durée de 15 jours environ et sont capables de transmettre par morsure la listériose à des souris blanches.

C'est donc la contamination indirecte qui semble la plus fréquente. Le schéma proposé étant alors :



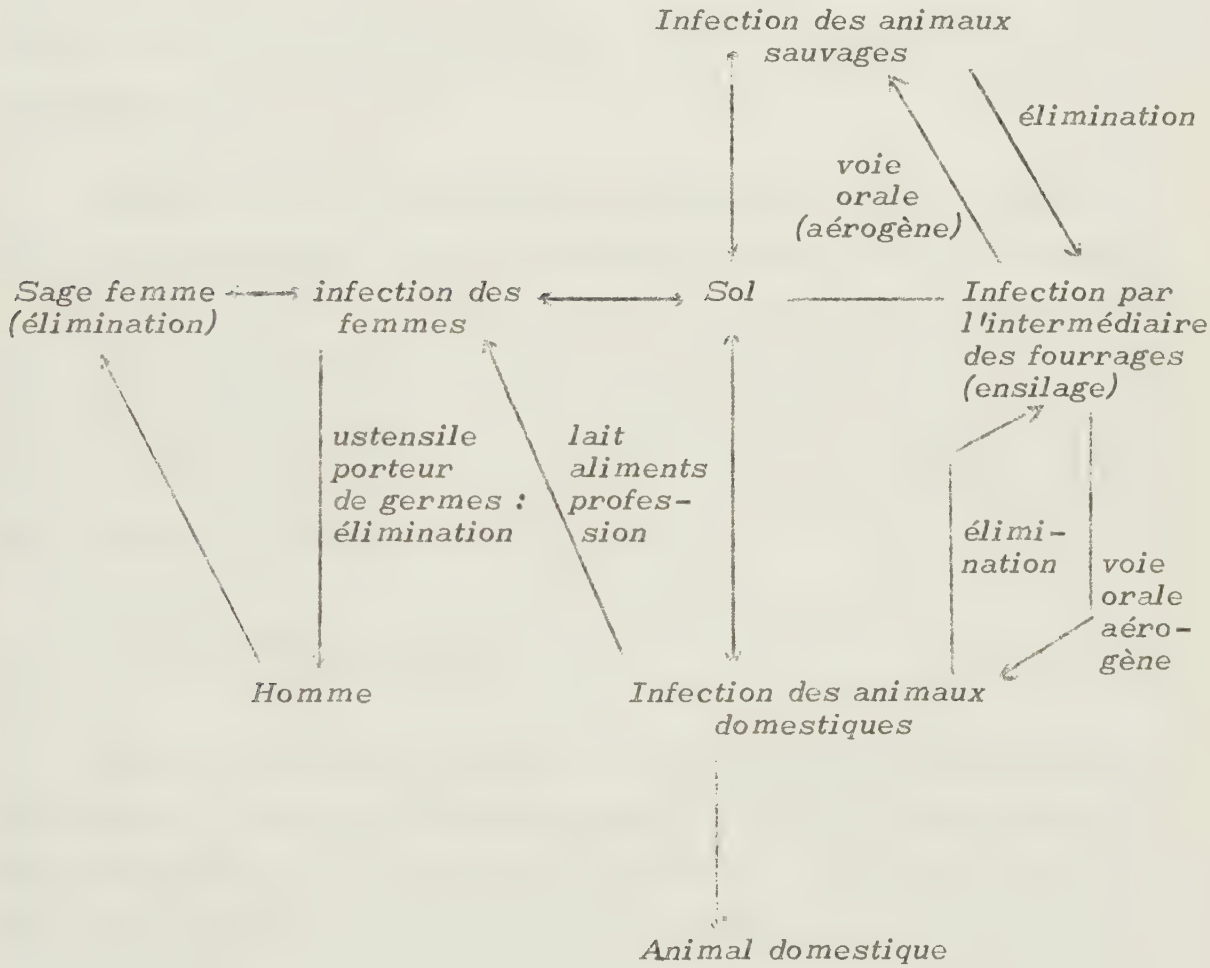
Par quelles voies la contamination a-t-elle lieu ?

Chez l'adulte, il s'agit le plus souvent de la voie digestive. Ceci est dû aux propriétés naturelles, biologiques des Listeria : très ubiquitaires, mobiles, résistant assez bien à la chaleur, proliférant à basse température et à pH acide. La voie pulmonaire semble également possible par inhalation des poussières.

Utilisant des monocytes marqués par la thymidine tritiée, Trinkt et Mackaness (91), montrent qu'il y a une augmentation rapide de la radioactivité au niveau des poumons chez des animaux ayant inhalé des Listeria.

Chez le nouveau-né, la contamination est transplacentaire, la mère étant le plus souvent porteuse saine. Il semble qu'il y ait passage directement dans le liquide amniotique puis inhalation et déglutition des germes par le foetus. Enfin élimination par les urines. Dans certains cas, il y a contamination du nouveau-né par les sécrétions vaginales lors de son expulsion des voies génitales.

Schéma de Ortel (58) :



Lors d'une septicémie les localisations viscérales sont multiples. Les foyers sont assez caractéristiques : ce sont les granulations listériennes ou nodules listériens ou listériomes, essentiellement constitués de cellules histiocytaires mononucléées.

Au centre il existe une zone de nécrose formée à partir de débris provenants des cellules parenchymateuses et histiocytaires (27). Autour, il y a les cellules parenchymateuses lysées et une multiplication intense des cellules histiocytaires. Il existe souvent des germes gram + intra ou extra cellulaires. Il y a souvent des microthromboses des capillaires entourant le foyer inflammatoire. Cet aspect est considéré comme caractéristique.

Chez les animaux d'élevage, les infections latentes, les formes subcliniques et septicémiques sont rares. Le plus souvent l'hystérotrophie du germe entraîne l'avortement chez les gestantes ovines et bovines et sa localisation sur le système nerveux central provoque la spectaculaire méningoencéphalite des ovins. Selon Wuileret et Després (95), les lésions prédominent dans la quasi totalité des cas à l'étage pontique et c'est à leurs yeux le seul exemple d'infection pyogène du système nerveux central comportant une telle spécificité.

Pouvoir Pathogène expérimental

Expérimentalement, on obtient facilement des avortements chez les femelles ovines et bovines gestantes par infection intraveineuse, intrapéritonéale, par voie vaginale et oculaire. La voie oculaire a été très étudiée car elle est utile pour le diagnostic biologique du germe : il s'agit du test d'Anton. On utilise de préférence le lapin. On instille au niveau de l'angle externe de l'un des yeux une goutte d'une culture jeune et en 24 à 48 h apparaît une conjonctivite associée ou non à une

kératite. Cette conjonctivite devient purulente et dans l'exsudat on retrouve des polynucléaires et des monocytes ayant phagocyté des listeria (2). Habituellement l'évolution se fait vers la guérison et l'immunité locale, sauf chez les femelles gestantes qui avortent. Exceptionnellement, mais plus fréquemment chez les ruminants, l'évolution se fait vers la méningoencéphalite.

Chez les animaux mâles ou les femelles non gestantes, on obtient facilement des septicémies par voie intraveineuse. Par voie intracranienne, après administration de tétracycline per os, on obtient très artificiellement des méningoencéphalites : les cyclines empêchent la généralisation, mais diffusent mal à travers la barrière méningée.

La voie respiratoire est également une bonne voie. Notons que les oiseaux sont plus résistants et plus particulièrement le pigeon.

Outre les voies d'introduction, le terrain joue également un grand rôle. Les âges extrêmes sont un facteur favorisant. Les femelles sont plus souvent atteintes, la gestation étant le facteur déclenchant de la listériose-maladie.

Chez l'homme, certains états pathologiques, où les défenses immunitaires sont diminuées, favorisent l'apparition de la maladie : les atteintes hépatiques (cirrhoses), le diabète, les hémopathies sont fréquemment associés à une listériose. Certaines thérapeutiques, justement celles qui affaiblissent les défenses de l'organisme, aggravent la maladie traitée, par l'infection qu'elles facilitent ; tels sont les corticoïdes, les antimitotiques, les globulines antilymphocytaires.

PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFECTION LISTERIENNE

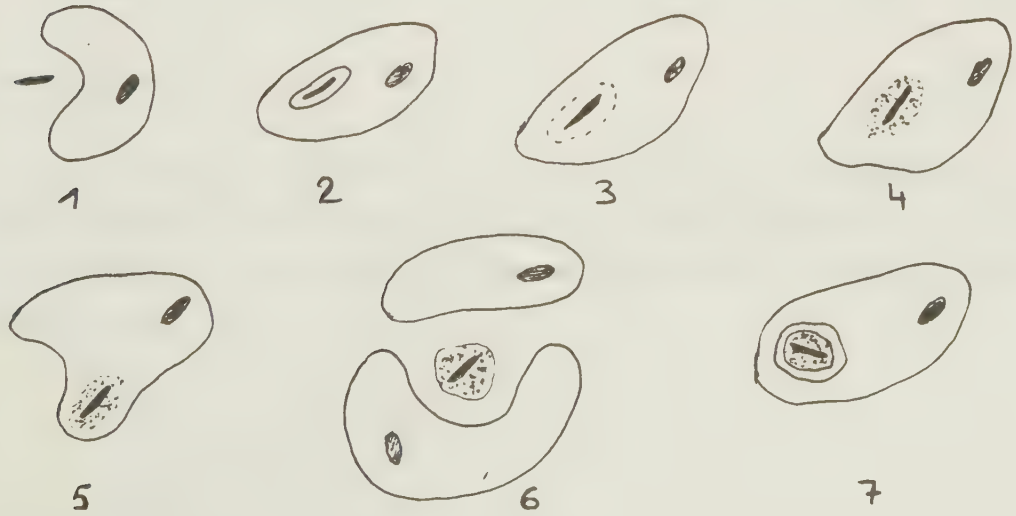
. Que constate-t-on lors de l'infection par Listeria monocytogenes ?

. En microscopie optique, RACZ, TENNER, MERO (68), ont étudié les différentes étapes de l'infection chez les cobayes, lors d'une cystite expérimentale : un germe pénètre dans une cellule épithéliale et s'y multiplie. Les cellules avoisinantes sont aussitôt atteintes. Elles se ballonisent. Il se produit ensuite un afflux de polynucléaires et de monocytes qui phagocytent les germes extra-cellulaires et il se forme un microabcès. Dans le même temps, on constate dans le tissu conjonctif subépithélial la présence de monocytes dans la dissémination de l'infection.

L'évolution se fait vers la nécrose homogène. Dans les vieux microabcès on trouve des cellules picnotiques et une disparition des germes.

. Au microscope électronique (88), ces mêmes auteurs ont étudié l'infection de la cellule épithéliale dans la kératoconjonctivite du cobaye.

. Celle-ci se fait suivant le schéma ci-dessous :



1ère étape : invagination de la membrane cytoplasmique

2ème étape : vacuole à membrane limitante contenant l'agent infectieux.

3ème étape : désintégration de la membrane limitante.

4ème étape : matériau granuleux entourant le germe.

5ème étape : formation d'une vésicule contenant le germe et limitée par la membrane cytoplasmique.

6ème étape : absorption de cette vésicule par une autre cellule.

7ème étape : germe intracellulaire dans une vacuole limitée par une double membrane.

36 heures après l'infection, il y a un oedème intercellulaire. L'épaisseur de la couche épithéliale est multipliée par 8. Les contacts entre les cellules ne persistant qu'au niveau des desmosomes. Le nombre des mitochondries est augmenté et elles sont altérées. Il existe de nombreux corps multivésiculaires. Les ribosomes sont détachés du reticulum endoplasmique.

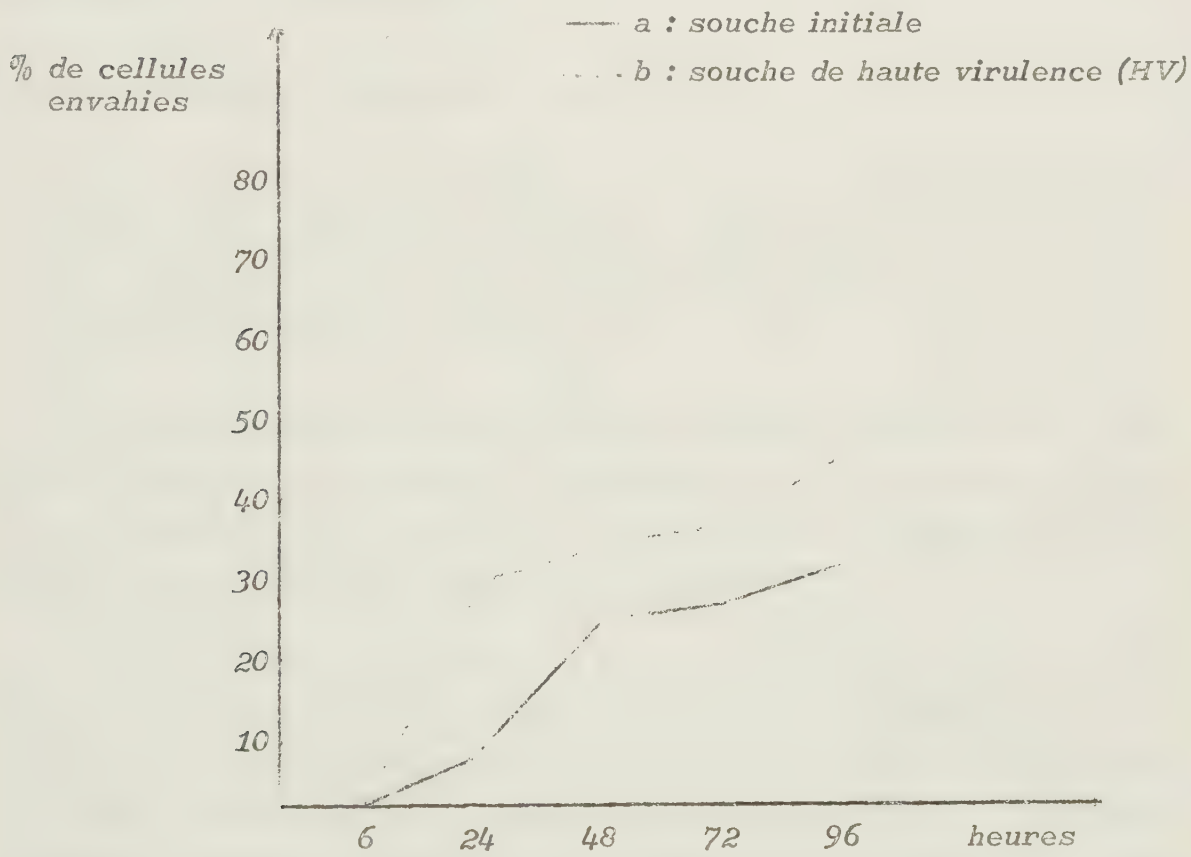
Ce même schéma s'applique aux monocytes. Il est important de souligner qu'il existe une phase épithéliale pendant laquelle les germes peuvent se multiplier dans les cellules épithéliales, où ils sont à l'abri avant d'être phagocytés par les monocytes.

Deux antagonistes sont donc en présence : le germe et l'hôte.

A - Le Germe -

La virulence de Listeria monocytogenes est essentiellement due à sa capacité de multiplication dans la cellule susceptible de la détruire. Est-ce une propriété du germe ou bien la cellule hôte est-elle défective ?

Une dynamique de l'infection a été étudiée par Veljanov, Kambourov et Mancheva (93) : il s'agit d'une étude sur la capacité d'invasion et sur la multiplication intracellulaire de variants de Listeria monocytogenes ayant différents degrés de virulence dans des cultures de cellules de rein de veau. La multiplication post mortem chez le cobaye accroît la virulence.



- lors de l'inoculation et 6 h après on ne note pas d'invasion.

- à la 24e heure : 8 % des cellules sont envahies par Listeria monocytogenes
30 % des cellules par Listeria monocytogenes HV

- à la 48e heure : 25 %
34 %.

Parallèlement à l'augmentation du nombre de cellules atteintes, on note une augmentation du nombre de listeria dans chaque cellule et une augmentation de la vacuolisation naissante du cytoplasme.

- à la 72e heure : 28 %
  37 % l'écart demeure constant.

Parallèlement il y a augmentation du nombre de listeria et une augmentation de la vacuolisation.

- à la 96e heure : la différence s'accroît.

- à la 120e heure : il y a décollement de la couche monocellulaire. La multiplication intracellulaire des listeria plus virulentes est plus active. Elle s'accompagne de la dégénérescence vacuolaire du cytoplasme et de la conservation du noyau.

Les auteurs notent la nécessité d'employer un inoculum important (5.10^3 germes) par rapport à S. typhimurium ou P. pseudotuberculosis, ce qui reproduit la forme subaigue de la maladie. La multiplication est lente et reproduit la forme naturelle de l'infection.

L'augmentation de la virulence est liée à une augmentation du métabolisme (augmentation de la capacité d'invasion et augmentation de la multiplication intracellulaire), elle-même liée à l'utilisation de certains pentoses : Ribose, xylose et arabinose, ainsi que du glucose 6 phosphate. Le germe détournerait pour lui-même plusieurs métabolites de la voie des pentoses des leucocytes.

- <u>Toxines</u> -

. On a pu mettre en évidence la présence d'une endotoxine (42).

C'est un facteur toxique détruit par une exposition de 30 ' à 55°C, ne diffusant pas dans le milieu, "collé à la cellule bactérienne". Il produit la mort d'animaux surrénalectomisés.

. Parmi les produits élaborés par le germe, on peut citer la présence d'une hémolysine (81, 82, 83). Il s'agit d'une exotoxine, puisqu'elle est produite à partir d'un filtrat de culture, précipité avec de l'HCI 4N, puis purifiée par dialyse. 100 microgrammes de toxine correspondant à 8 000 unités hémolytiques. Il existe différents procédés permettant l'extraction d'hémolysines plus ou moins purifiées, et ayant des effets légèrement différents chez l'animal.

Chez le chien, elle a un effet hémodynamique, avec chute de la pression artérielle, augmentation du rythme cardiaque immédiatement après l'injection, augmentation du rythme respiratoire. Dans les minutes qui suivent, la pression artérielle redevient normale, mais apparaît une arythmie. Ceci est probablement dû à l'effet cytotoxique de l'hémolysine. L'animal meurt 15 minutes après l'injection.

Chez le lapin, une perfusion d'hémolysine partiellement purifiée de Listeria monocytogenes provoque une réaction fébrile, une leucopénie profonde, une réduction marquée des plaquettes et des modifications des constituants du sang.

En culture de cellule de souris, les lésions débutent vingt minutes après l'addition par une densification du cytoplasme avec augmentation des inclusions et vacuolisation. Puis la membrane cytoplasmique devient irrégulière et la cellule meurt par éclatement.

La présence d'une phosphatase (19) serait également liée à la virulence du germe.

Parmi les autres produits élaborés, citons la présence d'une neuraminidase (39) et surtout du facteur responsable de la monocytose (extrait lipidique découvert par Stanley en 1948). Tadayon, Carroll et Murray (87) ont purifié et étudié les propriétés des facteurs actifs biologiquement dans les extraits lipidiques de Listeria monocytogenes. La technique d'extraction a été la suivante :

5 à 10 g de cellules lyophilisées de Listeria monocytogenes + 50 cc de poudre de verre et 100 cc de billes de verres.

Agité avec 200 ml de $CH\ CL_3$/Me OH (2/1) pendant 3 h à température ambiante dans un flacon à fond rond filtré

Extraction répétée deux fois avec 1 h d'agitation chaque fois

filtrats combinés

séchage par évaporation et faire passer sur CH CI3

extrait lipidique brut CH CI3 (soluble) (Actif)
=====

CH CI3 insoluble (Inactif)

Résidus

Agité avec 300 cc sérum salé pendant la nuit à 4°C et centrifugé

Surnageant

Résidu écarté

dialysé à l'eau distillée

Non dialysable (Actif)
====

Dialysable (Activité faible)
==========

L'extrait lipidique brut est ensuite traité par chromatographie sur colonne (Florisil traité à l'acide). Les lipides isolés produisent monocytose et lymphopénie.

On en sépare par chromatographie sur couche mince des phospholipides. Les plus lents à migrer sont biologiquement actifs et contiennent des acides aminés, ayant un groupement $\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - COO\,H$ libre :

Ninhydrine + .

Par dialyse eau-chloroforme on en sépare :

- fraction hydrosoluble biologiquement active.
- fraction non dialysable toujours Ninhydrine + encore plus active.

En résumé, les extraits lipidiques produisent monocytose et lymphopénie. Des protéines qui ont partiellement la même activité, leur sont associées fortement liées.

Selon Kosarine et Carroll (32), parmi les phospholipides isolés, les trois principaux composants sont le phosphatidylglycérol, diphosphatidylglycérol et biphosphatidylglycéryl phosphate.

Enfin on a incriminé dans la pathogénie des formes cliniques de la listériose, l'existence de formes L. On peut facilement les obtenir à partir de bactéries normales, par culture en présence de pénicilline ou de phage. On a pu en isoler du sang et du liquide synovial de malade atteint d'arthrite (60).

B - L'hôte -

. Quels sont les moyens dont dispose l'hôte pour résister à l'aggression listérienne ? Les mécanismes de défense peuvent être de deux ordres : humoral et cellulaire. L'immunité de type humoral fait appel à la production d'anticorps protecteurs, produits par des cellules lymphoïdes de l'organisme. Dans l'immunité de type cellulaire, la protection est réalisée par la phagocytose et la destruction des germes. Ces deux types d'immunité peuvent coopérer comme c'est le cas pour l'opsonisation, où les anticorps fixés sur le germe favorisent la phagocytose, ou bien entrer en compétition : c'est le phénomène de déviation immunitaire. L'acétoacétylation de la flagelline modifie son pouvoir immunogène. En même temps qu'elle réduit la réponse avec anticorps jusqu'à la faire disparaître, elle favorise simultanément le développement de la réaction immunitaire d'hypersensibilité retardée (HSR).

. De quel type l'immunité vis à vis de Listeria relève-t-elle ? Trois expériences sont à cet égard fondamentales (90) :

1°) - Les anticorps produits contre Listeria monocytogenes ne sont pas protecteurs. On prélève du sérum à un animal ayant résisté à une infection listérienne. L'injection de ce sérum à un animal receveur non immunisé, ne le protège pas vis à vis des germes.

2°) - Si, avant d'infecter des animaux par Listeria, ces mêmes animaux ont reçu une petite dose préalable de BCG, ils développent une immunité relative vis à vis de Listeria monocytogenes. L'injection d'endotoxine, ou de RNA poly inosine-cytosine ou de corynebacterium parvum (21) (Fauve et Hevin), provoque également cette immunité. Il existe donc une immunité non spécifique vis à vis de Listeria.

3°) - Si la primo injection a été réalisée avec des germes vivants (Listeria), et que les animaux ont survécu, la réponse à une deuxième injection, est plus rapide et plus complète que dans le cas de la deuxième expérience. Il existe dans ce cas une immunité spécifique. Il faut noter le développement parrallèle d'une hypersensibilité de type retardé (HSR).

De ces trois expériences on peut conclure que la résistance à Listeria monocytogenes est d'ordre cellulaire et qu'elle est spécifique ou non. Les expériences de Mackaness ont pu éclairer ces mécanismes de défense.

I - L'IMMUNITE A MEDIATION CELLULAIRE -

1°) - Les cellules immunitaires (53) -

a) - Le macrophage : c'est une cellule d'assez grande taille, 20 microns, de forme variable, riche en lysozomes. Dans le sang ces cellules sont représentées par les monocytes. Elles constituent le système réticuloendothélial. Elles proviennent de cellules médullaires d'aspect lymphoïde et ont toutes, malgré une morphologie parfois différente, une même aptitude physiologique : elles fixent les colorants vitaux et les particules de carbone. On les trouve aussi dans les capillaires de la rate, du foie (cellules de Kupfer), de la moëlle, dans le tissu conjonctif (histiocytes) et les cellules alvéolaires pulmonaires. Elles sont également nombreuses dans les ganglions lymphatiques. Leur répartition est telle qu'elle leur permet de capter par phagocytose les éléments étrangers à l'organisme et éventuellement, de les détruire et de les digérer.

Ainsi lorsqu'un germe se présente, il est immédiatement capté par un macrophage ou par un polynucléaire.

La phagocytose d'une bactérie comprend classiquement trois étapes : une phase d'adhésion où la bactérie s'accole à la membrane de la cellule phagocytaire, une phase d'ingestion où elle est englobée dans le cytoplasme du phagocyte et une troisième étape à la suite de laquelle la bactérie peut, soit être détruite, s'il existe une immunité vis à vis de ce germe, soit persister, soit se multiplier.

NB. les polynucléaires n'interviennent pas dans l'immunité vis à vis de Listeria. En effet, ils se révèlent incapables de le détruire, le germe continuant à se multiplier à l'intérieur de leur cytoplasme.

b) - Les lymphocytes : cellules de petite taille, ayant un rapport nucléocytoplasmique élevé. Selon leur taille on les divise en grands, moyens et petits lymphocytes ; suivant leur durée de vie en lymphocytes à vie longue et lymphocytes à vie brève. Les lymphocytes prennent naissance dans :

- les organes lymphoïdes primaires. On réunit sous ce nom le thymus des vertébrés, la bourse de Fabricius des oiseaux, et certaines formations digestives : amygdales, végétations adénoïdes, appendice ; le caractère de ces organes étant d'être tous des lieux de jonction ectoendodermique et se développant avant toute stimulation antigénique.

- les organes lymphoïdes secondaires sont purement

d'origine endodermique : rate, ganglions, plaque de Reyer. Ils ne se développent qu'après stimulation antigénique.

Tous ces organes sont peuplés à partir de cellules souches d'origine médullaire.

On a pu classer les lymphocytes en différentes catégories fonctionnelles chez l'animal par des expériences consistant à supprimer une ou plusieurs catégories de cellules, à tester le déficit immunitaire créé et à tenter de réparer le déficit par une ou plusieurs catégories de cellules : la thymectomie chez l'adulte supprime les thymocytes, la thymectomie néonatale chez les rongeurs supprime les thymocytes et les cellules thymodépendantes, le drainage du canal thoracique supprime les lymphocytes circulants d'origine ganglionnaire, l'irradiation à dose létale supprime la totalité des populations lymphoïdes et hématopoïétiques, mais non les macrophages (cependant les précurseurs des macrophages sont atteints). L'utilisation de cellules porteuses d'un marqueur radio actif et surtout d'un marqueur chromosomique, permet de faire la distinction entre les cellules dont la présence est nécessaire à une réponse immunitaire et les cellules qui sont directement impliquées dans cette réponse.

Ainsi on distingue :

. Les cellules lymphoïdes d'origine médullaire : ce sont des cellules à vie brève (quelques jours seulement), incapables de promouvoir à elles seules une réponse im-

munitaire normale, indispensable cependant à l'expression d'une réponse immunitaire normale.

Certaines d'entre elles sont dite "cellules sensibles à l'Antigène".

. Les lymphocytes thymodépendants ou thymodérivés (T Lymphocytes). Ces cellules pourraient, soit provenir directement de la petite proportion (5 %) de thymocytes qui passent dans la circulation soit dépendre de la présence d'un facteur humoral de maturation d'origine thymique, la thymosine, qui pourrait influencer directement des lymphocytes d'origine médullaire. Ces lymphocytes recirculent constamment du sang à la lymphe, aux ganglions, puis au canal thoracique pour rejoindre la circulation générale. Deux catégories de T Lymphocytes peuvent se reconnaître si on marque ces cellules :

- *Des lymphocytes mémoire à vie longue (5 %) recirculant pendant plusieurs années.*
- *Des lymphocytes à vie courte (95 %) capables de se multiplier de façon massive sous l'influence de certains stimuli non spécifiques (phytohé-mag-glutinine).*

. Les lymphocytes bursodépendants (B Lymphocytes). L'existence d'un équivalent bursique chez les mammifères n'a pas été prouvé. Soulignons que chez les oiseaux, les lymphocytes sont responsables de la réponse anticorps.

. Cellules immunologiquement compétentes (C.I.C.) : la compétence immunologique est l'état d'une cellule ca-

pable de répondre à un antigène directement, ou d'induire la réponse d'autres cellules. C'est le cas des cellules sensibles à l'antigène, capables de réagir avec l'antigène avant toute immunisation. Ces cellules portent des récepteurs de membrane spécifiques de l'antigène.

. La cellule activée (CA) (committed cell de Mackaness) est une cellule engagée dans une réponse immunitaire, production d'anticorps, ou immunité à médiation cellulaire, capable d'un nombre limité de mitoses, pour aboutir à des cellules terminales très spécialisées, mais destinées à disparaître rapidement soit "plasmocyte" soit "lymphocyte".

. La cellule mémoire est à la fois une cellule activée et une cellule sensible à l'antigène (CSA). Leur vie est longue.

. Les cellules sensibles à l'Antigène (CSA) : elles sont de deux types :

a) les cellules réactives à l'Antigène (CRA). Ce sont des cellules thymodépendantes porteuses d'un site de membrane récepteur correspondant à l'Antigène. Elles semblent être, en particulier, à l'origine de la différenciation des cellules mémoire à vie longue, qui ne seraient donc qu'une forme particulière de "cellules sensibles à l'antigène". Ces cellules à elles seules sont cependant incapables de donner une réponse anticorps normale.

b) Ces cellules précurseurs (CP) des cellules forment des anticorps. Elles sont porteuses d'un site récepteur de membrane spécifique de l'antigène qui pourrait être une immunoglobine. Ces cellules sont incapables à elles seules de produire une réponse anticorps normale. La présence de cellules réactives à l'antigène est nécessaire.

2°) - Les phénomènes de coopération dans la réponse immunitaire -

Les réponses immunitaires se déroulent habituellement en quatre stades :

- 1er stade d'information : les macrophages captent l'antigène, le digèrent partiellement et transfèrent l'information antigénique à la Cellule Immunologiquement Compétente qui est une Cellule Sensible à l'Antigène (Cellule Réactive ou Cellule Précurseur) sous forme d'un facteur de transfert qui serait un RNA bicaténaire de faible poids moléculaire lié à l'Antigène. Le contact étroit entre macrophage et lymphocyte, l'aspect de ponts intercellulaires analogues à des desmosomes serait en faveur de l'hypothèse de transfert de cellules à cellules. Notons que pour Listeria monocytogenes la persistance de germes vivants dans l'organisme est nécessaire au maintien de l'immunité spécifique.

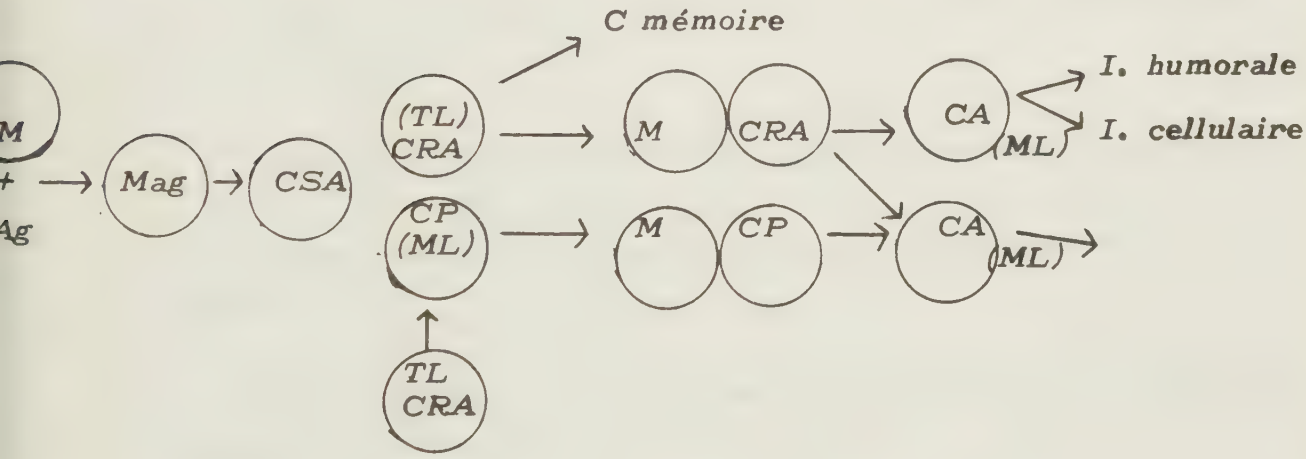
- 2e stade : apparition de cellules activées.

- 3e stade : réponse primaire à l'infection :

  - production d'anticorps (IgM)
  - réponse cellulaire : . lyse des bactéries phagocytées par les macrophages.

. apparition de l'hypersensibilité retardée.

- 4e stade : réponse secondaire à une réinfection : le macrophage ne paraît pas jouer de rôle initiateur dans cette réponse. Au contraire, les cellules mémoire joueraient un rôle important : elles sont responsables de la production de facteur de transfert capable de stimuler spécifiquement des cellules non immunisées in vitro et de faire apparaître une mémoire immunologique in vivo (uniquement dans l'immunité de type cellulaire : rejet de greffe par exemple).



II - LE PROBLEME DE L'IMMUNITE A L'INFECTION LISTERIENNE

Il a été éclairé par les travaux de Köster, Mac Grégor et Mackaness (47, 33, 34, 35). La résistance acquise à Listeria monocytogenes a son origine dans un mécanisme, où des cellules lymphoïdes spécifiquement activées (committed cells = CA) ont un rôle crucial. Les cellules ayant la capacité de protéger la souris normale et les rats normaux contre une infection à Listeria monocytogenes apparaissent précocément dans la rate et le canal thoracique au cours de la primo-infection. Leurs propriétés les définissent comme des lymphocytes :

- Elles ne peuvent adhérer au verre ou au coton contrairement aux macrophages.

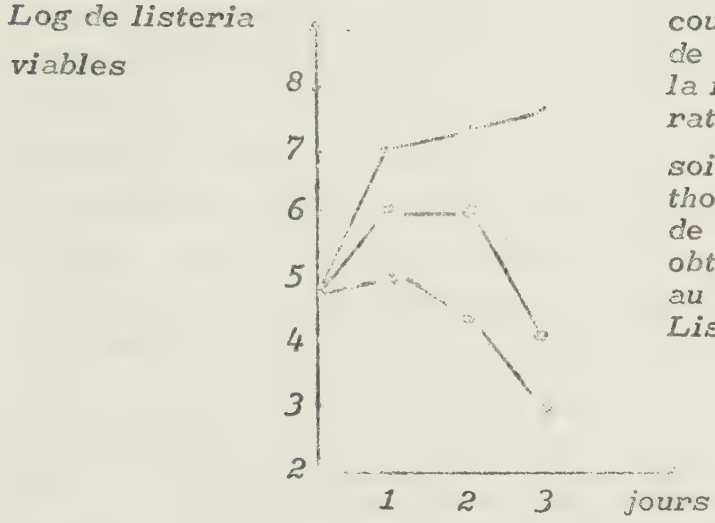
- Elles sont présentes dans la lymphe du canal thoracique.

- Elles peuvent être supprimées par des globulines antilymphocytaires.

1°) - Durée de vie et dynamique de circulation du lymphocyte immunologiquement compétent.

a) Capacités protectrices des cellules du canal thoracique.

Sept jours après une infection locale ou systémique, les cellules activées peuvent protéger un receveur normal. Dans cette première expérience, on forme 2 groupes de receveurs de cellules et un groupe de contrôle. Ils reçoivent 4, 3 10^6 Listeria viables, 1 heure après le transfert de cellules de canal thoracique. L'immunité est mesurée par la présence d'organismes vivants dans le foie et la rate.



courbe décrivant la croissance de Listeria monocytogenes dans la rate de rats normaux et de rats protégés soit par 5 10^7 soit 2 10^6 cellules de canal thoracique par gramme de poids de corps. Les cellules ont été obtenues à partir de donneurs au 7e jour d'une primo-infection Listérienne.

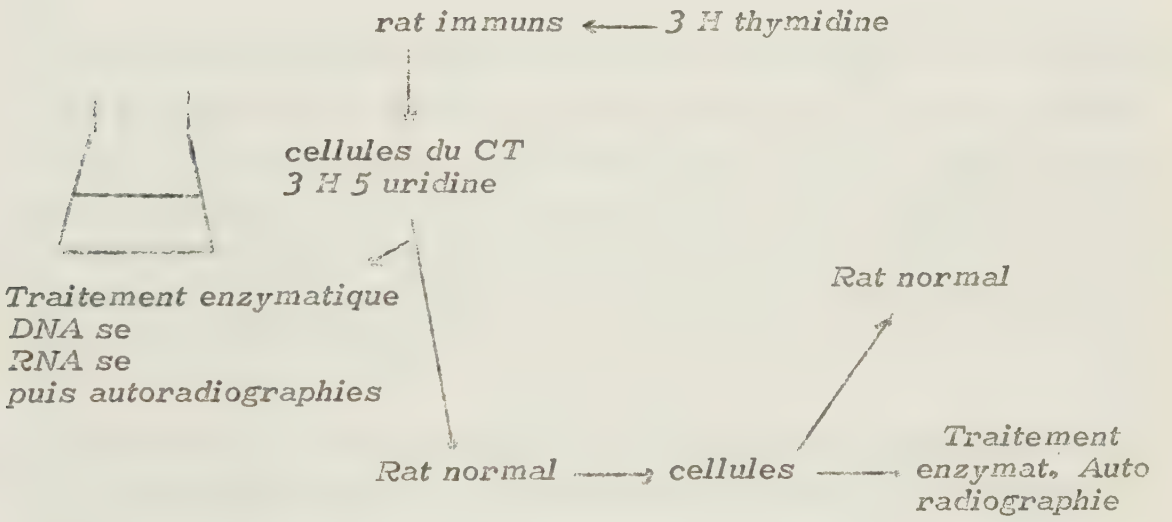
b) Production de CA.

Les cellules qui protègent les rats normaux apparaissent durant la première semaine de l'infection. Puisqu'elles ne sont pas normalement présentes, c'est qu'elles sont nouvellement formées. On peut les mettre en évidence par l'emploi de la thymidine tritiée qui s'incorpore au noyau en voie de division. On forme deux groupes de trois animaux : 3 rats normaux et 3 rats infectés. Ils reçoivent tous de la 3H thymidine (0,34 microcurie par gramme de poids de corps) toutes les 8 h pendant 6 jours. Au 7e jour, on prélève la lymphe du canal thoracique. On constate que la lymphe des animaux infectés contient un pourcentage accru de lymphocytes marqués, mais que la distribution de la radioactivité dans les deux populations est similaire.

c) Comparaison de la protection apportée par les cellules du canal thoracique à des donneurs immunisés activement et adoptivement.

La méthode utilisée exploite le fait que les cellules du canal tho-

racique peuvent être marquées dans leur DNA et leur RNA. Les lymphocytes fabriqués durant les 6 premiers jours de la primo-infection sont marqués dans leur DNA par injections répétées à l'animal, de thymidine tritiée. Ceux formés durant (et avant) l'immunisation sont marqués dans leur RNA par de l'3H 5 uridine en les incubant in vitro. Presque tous les grands et moyens lymphocytes et 16, 4 % des petits lymphocytes sont marqués par la thymidine tritiée. Après 3 H 5 uridine, 84, 6 % des petits lymphocytes sont marqués. Les cellules doublement marquées sont ensuite injectées par voie intraveineuse à des receveurs nouveaux. Pour diminuer la réutilisation éventuelle des produits radioactifs, les receveurs subissent une perfusion continue de solution de Ringer contenant thymidine et uridine non radioactives.



Pourcentage Lymphocytes marqués

Cellules du CT	Grand et moyen		Petit	
	DNA	RNA	DNA	RNA
Donneurs	98,5	> 99,5	16,4	84,6
Receveurs	< 0,5	0,5	1,1	20,3

- Les autoradiographies sont exposées 2 semaines.

- Les donneurs sont infectés avec approximativement 8 X 10^6 Listeria monocytogenes. Les animaux reçoivent toutes les 8 heures, pendant 6 jours, 0,34 microcurie de thymidine tritiée /g pc. La première injection est reçue en même temps que l'infection immunisante. La lymphe est collectée durant les 24 premières heures après la dernière injection. Les cellules regroupées de 3 animaux sont marquées in vitro par la 3 H 5 uridine.

- Les receveurs reçoivent en IV 7. 10^8 cellules du canal thoracique de donneurs infectés. Les cellules sont collectées 24 à 48 heures après l'injection.

Les lymphocytes marqués ne recirculent donc pas du sang vers la lymphe du canal thoracique.

Le tableau suivant montre que non seulement les cellules activées ne recirculent pas, mais encore que ce sont elles qui confèrent l'immunité.

Immunisation des donneurs	Nombre de cellules injectées (10^6/100 g de pc)			Log_{10} protection	
	Total	DNA marqué	RNA marqué	Foie	Rate
Active	50	12	43	0, 98	0, 61
Adoptive	500	5	97	- 0, 14	- 0, 29

Différence en Listeria viables dans les foies et rates de 5 rats normaux et un groupe de 5 rats ayant reçu des cellules de canal thoracique. Les cellules ont été injectées IV. 1 heure après une aggression IV de 10^7 germes. Les animaux ont été sacrifiés 48 h après l'injection.

Ces lymphocytes protecteurs ont donc un turnover rapide et ne recirculent pas. Que leur arrive-t-il, une fois qu'ils sont entrés dans le sang par le chemin du canal thoracique ?

2°) - Migration des Lymphocytes Activés vers les exsudats inflammatoires.

Il est nécessaire pour les expériences qui vont suivre d'expliquer comment les suspensions cellulaires utilisées ont été préparées :

Toutes les cellules utilisées sont obtenues au 7e jour d'une primo-infection listérienne.

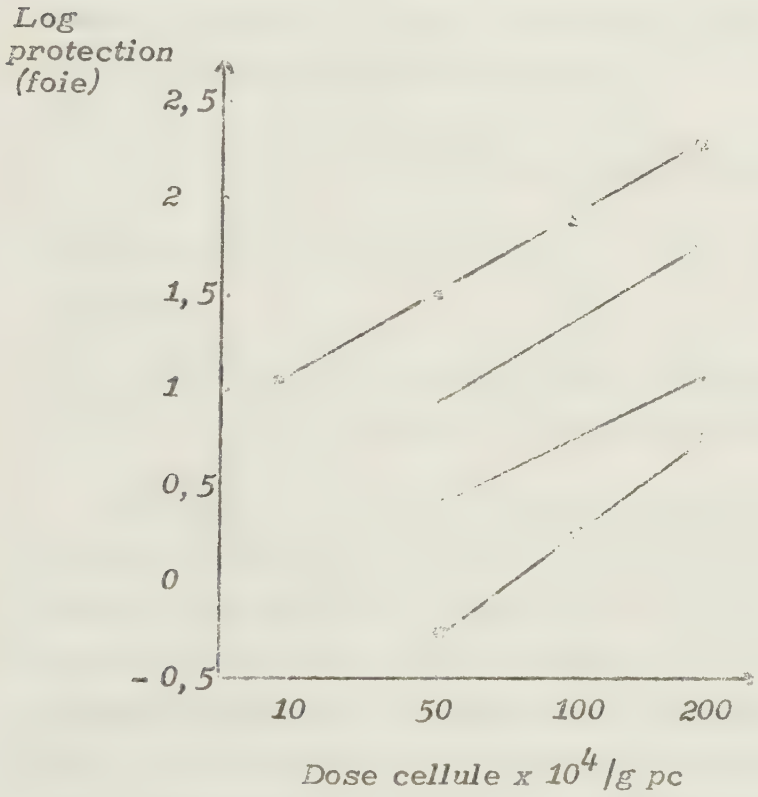
. Les cellules du canal thoracique : par ponction du canal thoracique.

. Les cellules spléniques : exprimées à travers un tamis et filtrées dans une colonne de 4 cm de coton-laine purifiée par l'acide. Lavées ensuite, elles sont resuspendues en milieu frais. La suspension finale des cellules est hétérogène, mais contient peu de macrophages.

. Exsudats péritonéaux : préparés à partir d'animaux ayant reçu par voie intrapéritonéale 50 µg de bactéries tuées ou 30 ml/kg pc d'une solution à 12 %, stérile, de caséinate de soude. (préparé à partir de Listeria monocytogenes et Salmonella albus). Les exsudats sont recueillis 72 h après stimulation par le caséinate de soude ou 24 h après l'injection de bactéries tuées. Ceux induits par le caséinate de soude contiennent 75 % de grandes cellules mononucléées (macrophages et Lymphocytes ayant un diamètre nucléaire supérieur à 8 µ), 15 % de petites cellules mononucléées (petits lymphocytes et monocytes) et un nombre variable de polynucléaires. Le pourcentage de petites cellules mononucléées est augmenté en incubant les cellules à 37°C dans des bacs contenant du coton-laine stérile. Après 1 heure, le milieu est décanté et le coton doucement lavé pour déplacer les cellules non adhérentes. On multiplie de cette façon le nombre de lymphocytes par trois.

a) - Immunisation adoptive par les cellules de donneurs infectés par Listeria.

On compare l'effacité de cellules d'exsudats, de rate et de canal thoracique. Les receveurs ayant reçu 48 h avant une dose létale de Cyclophosphamide (200 mg/kg).



Les donneurs sont immunisés pendant 7 jours.

- cellules de rate
- cellules de CT.
- cellules d'exsudats péritoneaux.

La protection est exprimée par le log de la différence des nombres de listeria viables de rats immunisés adoptivement et des rats non immunisés de contrôle, 2 et 3 jours après une injection IV de 7,8 10^4 à 3,4 10^5 germes.

Les exsudats protègent plus que la lymphe du canal thoracique. Est-ce parce qu'ils contiennent des macrophages ?

b) - Pour répondre à cette question il suffit de comparer la capacité protectrice des cellules des exsudats de donneurs normaux et de donneurs immunisés. En effet, la différence entre ces deux types d'exsudats ne réside pas dans le nombre de macrophages présents mais dans le nombre de CA. Or, on constate que les exsudats de donneurs normaux n'ont pas d'effet protecteur.

c) - Origine des cellules protectrices des exsudats :

- *ce ne sont pas des macrophages - elles n'adhèrent pas au verre ni au coton.*
- *elles appartiennent à une population cellulaire présente dans la lymphe centrale comme le prouve l'expérience suivante :*

On prépare les donneurs par injections répétées de thymidine tritiée durant les 6 premiers jours d'une primo-infection listérienne. Les cellules recueillies le septième jour au niveau du canal thoracique sont injectées par voie IV à des rats normaux. Immédiatement après, les receveurs subissent une injection intrapéritonéale de 50 g de Listeria tuées. Une perfusion de thymidine non radioactive est mise en place, comme plus haut. On mesure la radioactivité au niveau des exsudats péritonéaux.

On constate l'existence d'un pic à la 24e heure. Les lymphocytes du canal thoracique ont donc migré du sang vers la cavité péritonéale infectée. Mais cela n'établit pas qu'ils sont présents dans le péritoine comme une conséquence de l'inflammation.

d) - Pour cela on compare l'effet protecteur de cellules résidentes dans la cavité péritonéale de donneurs immunisés contre Listeria et l'effet protecteur des cellules d'exsudats de donneurs immuns. On constate que les secondes sont plus actives que les premières, à nombre égal bien entendu : ce qui prouve que les cellules des exsudats ne sont pas des cellules résidentes habituelles de la cavité péritonéale et qu'elles sont donc une conséquence de l'inflammation.

Toutes ces expériences donnent des raisons de penser que ce sont des lymphocytes plutôt que des macrophages qui confèrent aux exsudats un degré substantiel de résistance antimicrobienne. Mais ces lymphocytes n'ont pas été identifiés morphologiquement. C'est le but des expériences suivantes.

3°) - Circulation du Lymphocyte à partir du sang vers la cavité péritonéale enflammée.

a) - Migration des Lymphocytes nouvellement formés vers la cavité péritonéale enflammée.

Des rats normaux et des rats infectés par Listeria monocytogenes reçoivent toutes les 8 h pendant 6 jours de la thymidine tritiée. Les cellules obtenues durant les premières 24 h après la dernière injection sont fournies à des receveurs normaux à une dose équivalente à 10^6 cellules/g de poids corporel. Immédiatement après le transfert, les receveurs sont stimulés intrapéritonéalement avec du caseum, des listeria tuées ou les deux - 24 h après le transfert, les animaux sont sacrifiés pour l'examen.

Donneurs	Stimulus	Ganglions lymphatiques mésentériques		Sang		Exsudat péritonéal		
		Petit Lymp.	Grand et Moyen L.	Petit L.	G et M L.	Petit L.	G et M L.	Macrophages
Normal §	Caseum	48/3000 (18, 2)	1/105 (67)	34/3000 (18, 1)	3/79 (44)	6/500 (27)	1/26 (39)	0/8850 –
	0	34/3000 (14, 9)	0/49 –	24/3000 (10, 9)	0/130 –	1/3000 (28)	0/0 –	0/10.637 –
Immun	Caseum	47/3000 (20, 6)	1/132 (33)	40/4000 (18, 8)	2/42 (63)	16/500 (36, 8)	6/53 (48, 6)	0/8000 –
	Listeria	68/3000 (26, 6)	1/98 (76)	61/3000 (30, 3)	5/33 (54, 8)	49/500 (40, 2)	23/95 (42, 1)	0/568 –
	Caseum + Listeria	56/3000 (23, 6)	1/145 (36)	53/3000 (26, 2)	5/41 (49, 8)	21/500 (30, 2)	7/54 (48)	0/9330 –

. Nombre de cellules marquées / nombre de cellules examinées.

. Le nombre entre parenthèse chiffre la radioactivité : c'est le nombre moyen de grains développés par cellules (MGC). Ces autoradiographies sont exposées 7 semaines.

§ : L'inoculum de cellules du CT contient 97,3 % de petits lymphocytes (MGC 24,9) et 2,7 % de grands et moyens lymphocytes (MGC 44,7).

Infecté par voie SC avec 8,210^5 Listeria monocytogenes. La première injection de thymidine tritiée est faite le jour même de l'infection. L'inoculum de cellules du CT contient 95,3 % de petits lymphocytes (MGC 23,4) et 4,7 % de grands et moyens lymphocytes (MGC 42,7).

. Distribution des cellules marquées par 3 H thymidine chez des rats ayant reçu par voie IV des cellules du CT marquées principalement dans leur composant à courte vie.

. Ce tableau montre qu'un nombre substantiel de lymphocytes marqués ont été trouvés dans les ganglions lymphatiques, le sang et les cavités péritonéales des receveurs. Les cellules des exsudats marquées sont toutes des lymphocytes. Les macrophages marqués ne sont pas retrouvés, bien que les macrophages comptent pour 94,4 % des cellules monocucléaires examinées.

. D'autre part la radioactivité par petit lymphocyte marqué dans les exsudats est plus grande que celle des petits lymphocytes de l'inoculum du donneur, ou dans le sang ou des ganglions lymphatiques des receveurs.

Ceci implique que ces petits lymphocytes très marqués appartiennent à une sous-population spéciale de petits lymphocytes, ou bien qu'une portion significative de l'exsudat, contenant des petits lymphocytes, dérive des grands et moyens lymphocytes toujours plus marqués, et originellement présents dans l'inoculum du donneur.

Cette dernière possibilité a été testée dans l'expérience suivante :

b) - Distribution des cellules du canal thoracique marquées in vitro avec la thymidine tritiée.

La différence essentielle avec l'expérience précédente consiste dans le marquage des cellules. Celui-ci se fait in vitro, le 7e jour, en incubant les cellules pendant 1 h avec la thymidine tritiée. Ce procédé marque peu (sinon pas du tout) les petits lymphocytes. Les autoradiographies (5 semaines d'exposition) préparées à partir des cellules après incubation révèlent que 62, 9 % des grands lymphocytes et 16, 9 % des moyens lymphocytes sont marqués. Le MGC/Lymphocytes moyen est de 69, 8 alors que les grands lymphocytes sont trop fortement marqués pour qu'on puisse mesurer leur radioactivité.

Les cellules du canal thoracique préparées de cette façon sont injectées par voie IV à des receveurs normaux à une dose équivalente à 10^6 cellules/g pc. Immédiatement après, les receveurs subissent une perfusion de thymidine non radioactive et tous sont stimulés par voie intrapéritonéale avec 50 μ g de Listeria monocytogenes tuées.

moment du sacrifice (heures après le transfert de cellules)	Ganglion lymphatique mésentérique		Exsudat péritonéal		
	P Lymphocyte	M et G Lymphocyte	P Lymphocyte	M et G Lymphocyte	Macrophages
24	0/10.000 - 0/10.000 -	0/517 - 0/252 -	18/1.000 (52, 9) 23/1.000 (43)	7/53 (72, 2) 6/70 (63)	0/1.016 - 0/3.120 -
48	2/10.000 (29)	0/437	11/1.000 (15, 7)	0, 24 -	0/1.711
72	0/10.000 -	0/239 -	13/1000 (18, 2)	0/19 -	0/3486

Distribution des cellules marquées, chez des rats ayant reçu par voie IV des cellules de canal thoracique marquées in vitro par de la thymidine.

L'inoculum contient 95, 5 % de petits lymphocytes (0, 05 % marqués), 1, 7 % de grands lymphocytes (62, 9 % marqués) et 2, 8 % de moyens lymphocytes (16, 9 % marqués).

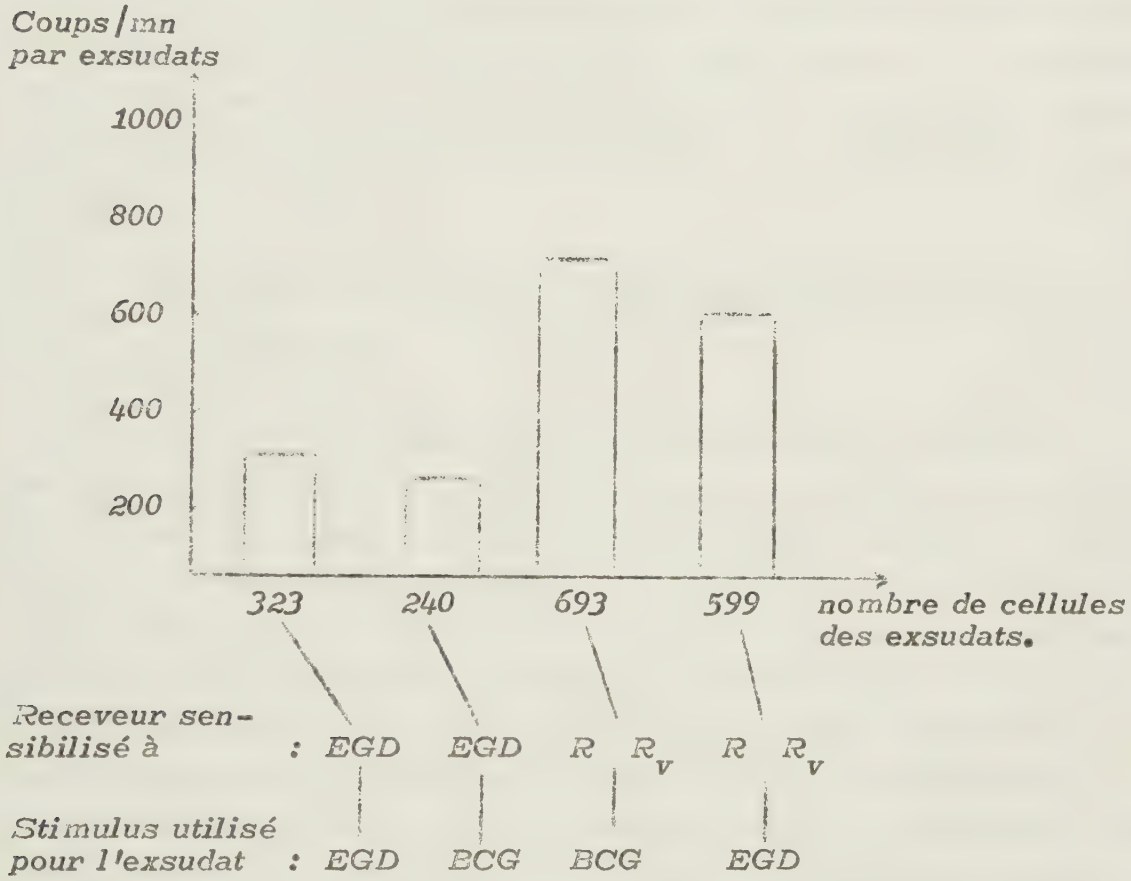
Seulement 2 lymphocytes marqués (2 petits) sont trouvés parmi plus de 40.000 cellules de ganglions lymphatiques examinées. A l'opposé, ils sont fréquents parmi les cellules de la cavité péritonéale enflammée. A la 24ème heure, la radioactivité est présente dans les grands, moyens et petits lymphocytes, mais 42 et 72 h plus tard, on ne la retrouve que chez les petits lymphocytes. Ces résultats impliquent que grands et moyens lymphocytes, les seules cellules qui ont incorporé la thymidine tritiée in vitro, ont migré du sang vers les exsudats de la cavité péritonéale où ils se sont différenciés en petits lymphocytes. La décroissance en MGC dans le temps implique que la division cellulaire intervient dans ce processus.

Dans cette expérience, la cavité péritonéale est enflammée par une injection locale de Listeria monocytogenes tuées. On pourrait conclure que les lymphocytes de donneurs infectés avec ces organismes migrent vers les exsudats sous l'influence chimiotactique des antigènes listériens. On a donc cherché un processus sélectif en mesurant le passage des cellules du canal thoracique marquées vers les exsudats péritonéaux induits soit avec Listeria monocytogenes, soit avec un organisme sans relation antigénique : BCG. L'influence de l'hypersensibilité retardée sur la disposition des cellules marquées est étudiée simultanément en sensibilisant les receveurs soit avec Listeria monocytogenes, soit avec Mycobacterium tuberculosis.

c) - Accumulation des lymphocytes nouvellement formés dans les exsudats inflammatoires induits par stimulation spécifique et non spécifique.

Des lymphocytes nouvellement formés, incluant ceux formés en réponse aux antigènes listériens, ont été marqués in vivo par une série de 18 injections de thymidine tritiée, reçues durant les 6 premiers jours d'une infection primaire à Listeria. Les cellules du canal thoracique

obtenues au 7e jour sont injectées par voie IV à des receveurs sensibilisés 7 jours plus tôt avec des Listeria vivantes (souche EGD), ou 8 jours plus tôt avec Mycobacterium tuberculosis tué par la chaleur, souche R R_v, dans de l'huile. Immédiatement après le transfert, les animaux sont stimulés avec Listeria monocytogenes ou BCG tués.



Le fait que Listeria monocytogenes et BCG soient également efficaces en provoquant l'émigration de cellules marquées, implique un manque de spécificité immunologique, au moins à l'égard du processus qui attire les lymphocytes nouvellement formés vers la cavité péritonéale enflammée.

Une expérience de Hill (29) vient confirmer cela : des Listeria sont injectées dans un site déjà préparé par une injection non spécifique (substance inflammatoire quelconque), à un animal immunisé : l'action microbicide est beaucoup plus rapide. Ce qui tend à prouver que les cellules activées étaient déjà là, lorsqu'on a injecté les bactéries. Ce qui tend à prouver également qu'une inflammation locale recrute le spectre entier des cellules immunocompétentes. Ceci montre l'importance de l'hypersensibilité retardée dans l'immunité cellulaire : la présence de quelques germes va provoquer l'apparition d'un foyer inflammatoire important dans lequel les cellules activées vont se rassembler en grand nombre.

d) - Incapacité pour les petits lymphocytes de pénétrer dans les exsudats.

Si, dans la première de cette troisième série d'expérience, on provoque la formation des exsudats trente jours après la primo-infection au lieu de 7 jours, et qu'on sacrifie les animaux à ce moment-là, l'examen de plus de 10.000 cellules de chaque exsudat ne révèlent aucune cellule marquée. Par contre on retrouve quelques lymphocytes marqués dans les ganglions lymphatiques mésentériques et dans le sang. Cela s'explique par le fait que les Grands et Moyens lymphocytes se sont divisés en petits lymphocytes activés qui ont une vie courte et ne recirculent pas, donc qui disparaissent très vite de la circulation. Les petits lymphocytes à vie longue, recirculants, persistent pendant ce délai de 30 jours, mais ne sont pas recrutés par les foyers inflammatoires.

La résistance acquise à une infection intraveineuse avec Listeria monocytogenes dépend de l'interaction de deux types de cellules : les lymphocytes spécifiquement activés et les macrophages dérivés des monocytes.

4°) - Coopération entre lymphocytes et phagocytes mononucléaires.

Le cyclophosphamide est un agent alkoylant polyfonctionnel. Comme moutarde à l'Azote il a un effet cytolytique direct, et il peut inhiber la multiplication cellulaire par action directe sur le DNA.

a) - Effets du cyclophosphamide sur le développement de la résistance de l'hôte à l'infection.

Une injection de 200 mg/kg de Cyclophosphamide inhibe le développement de l'immunité protectrice contre Listeria. Ceci n'est pas dû à l'effet du Cyclophosphamide sur les lymphocytes circulants, car l'incapacité de rats traités par le Cyclophosphamide de répondre à une infection listérienne, ne peut être corrigée par l'injection de cellules de canal thoracique de donneurs normaux, non immunisés. Ce résultat implique que l'immunité protectrice contre Listeria monocytogenes requiert l'intervention de cellules autres que les lymphocytes, et que ces cellules sont inhibées ou détruites par le cyclophosphamide : ce sont probablement les phagocytes mononucléaires.

L'effet du cyclophosphamide sur les macrophages dérivés du sang qui s'assemblent dans un exsudat inflammatoire a donc été examiné.

b) - Effets du cyclophosphamide sur les macrophages péritonéaux.

Des rats adultes jeunes, sont stimulés par voie intra péritonéale avec du caséinate de soude à intervalles variables après une seule injection de Cyclophosphamide. Afin de marquer les précurseurs des macrophages, les animaux sont piqués avec de la thymidine tritiée (1 microcurie/g pc) pendant l'induction des exsudats.

Le tableau montre qu'une injection de Cyclophosphamide reçue le jour même de la stimulation par le caseum a peu ou pas d'effet sur le nombre de macrophages retrouvés dans la cavité péritonéale enflammée. Cependant le nombre de cellules nouvellement formées est diminué. Puisque la majorité des cellules macrophagiques de l'exsudat n'est pas marquée, c'est que ces macrophages doivent dériver de prédécesseurs circulants, vraisemblablement de monocytes sanguins qui ont eux-mêmes été produits avant le traitement.

Une décroissance importante dans le nombre de macrophages des exsudats survient chez des animaux stimulés avec du caseinate de soude 24 h après une seule injection de Cyclophosphamide. La décroissance observée, moins de 10 % de la valeur normale, peut être expliquée par la consommation accrue de monocytes du sang et un effet inhibiteur de la drogue sur les précurseurs replicants des monocytes.

Effets du cyclophosphamide sur les leucocytes sanguins et les cellules de cavités péritonéales enflammées de rats.

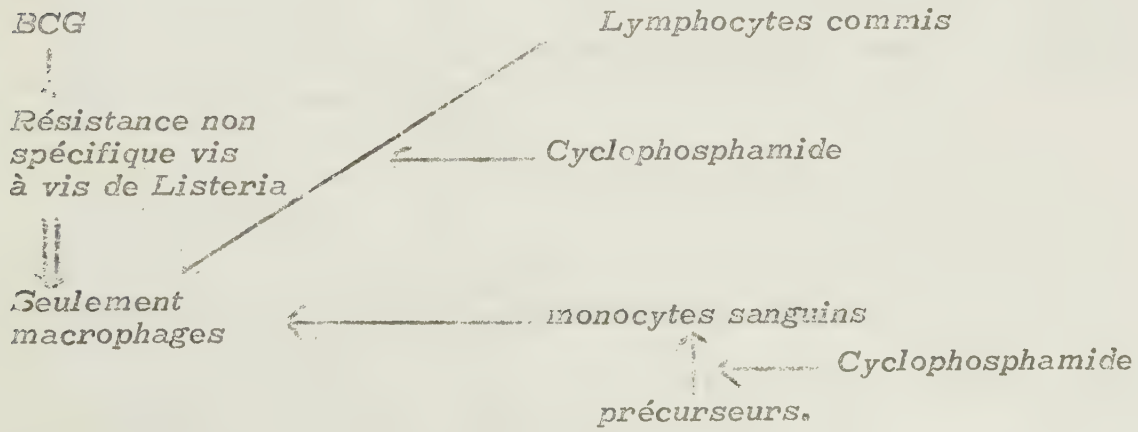
Cyclophosphamide mg/kg	Exsudats induits (jours après l'administration de cyclophosphamide	Sang cardiaque Leucocytes/mm³	Cellules d'exsudat péritonéal X 10⁶					
			Polynucléaires		grandes cellules mononucléaires		petites cellules mononucléaires	
			Nombre	marquées	Nombre	marquées	Nombre	marquées
0	0	5.200	160,8	5,6	33,3	15,8	3,9	1,7
50	0	2.038	186,9	3,1	32,4	7,9	3,7	1,0
	1	1.052	104,3	0,2	1,7	0,2	0,8	0,1
	2	981	83,9	6,8	1,4	0,3	0,5	0,1
	3	807	17,7	7,8	1,7	1,1	0,6	0,1
	4	1.010	96,9	15,7	9,8	7,2	1,5	0,6
	5	1.635	118,4	20,4	31,3	17,4	2,4	1,2
	6	2.980	112,4	5,4	31,8	15,7	2,0	1
200	0	1.806	111,3	0,8	19,8	3,0	1,1	0,1
	1	676	107,0	< 0,1	2,1	0,1	0,5	< 0,1
	2	244	80,3	< 0,1	1,6	< 0,1	0,3	< 0,1
	3	73	5,9	< 0,1	0,3	< 0,1	< 0,1	< 0,1
	4	22	0,3	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
	5	17	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1

- *Exsudats prélevés 24 heures après injection intra péritonéale de caséum - Moyenne de 3 -*
- *Autoradiographies exposées 5 semaines.*

L'inhibition de la production de monocytes est totale et irréversible chez des animaux ayant reçu 200 mg/kg de Cyclophosphamide. Des rats traités (voir tableau) avec cette dose létale sont incapables de former un exsudat cellulaire contenant des macrophages nouvellement formés quand on les stimule avec du caséinate de soude 4 à 5 jours après le traitement. Par contre, des receveurs de 50 mg/kg se remettent des effets inhibiteurs du Cyclophosphamide.

c) - North (56) a pu montré que les monocytes sanguins vont s'accumuler au niveau du foyer inflammatoire : Si on injecte des Listeria par voie intraveineuse, les germes vont rapidement être captés par les cellules de Kupfer au niveau du foie. Si on a irradié le foie plusieurs jours auparavant, les cellules de Kupfer ont disparu par le même mécanisme que le traitement au Cyclophosphamide mais localisé au foie. L'injection IV ultérieure de germe, provoque l'accumulation locale de macrophages dérivés de monocytes.

d) - Lymphocytes immunocompétents et macrophages dérivés de monocytes sont les deux types de cellules qui coopérent dans l'immunité spécifique à Listeria. La réponse à une cible hétérologue ne repose que sur le macrophage. L'injection de BCG à des rats normaux provoque l'apparition d'une résistance non spécifique vis à vis de Listeria. Si l'on traite ces rats par du Cyclophosphamide, à dose modérée, donc si on détruit les lymphocytes, on s'aperçoit que ces rats conservent une immunité vis à vis de Listeria. C'est donc que seuls les macrophages supportent cette immunité non spécifique.



- CONCLUSION -

1°) - Rôle du lymphocyte dans l'induction de la résistance cellulaire :

- ce sont les petits lymphocytes à vie courte qui sont les "cellules activées", ce sont elles qui confèreront aux macrophages la capacité de lyser les germes phagocytés.

Elles sont les vecteurs de la spécificité.

Elles existent dans tout foyer inflammatoire.

2°) - Rôle du macrophage dans l'expression de la résistance cellulaire :

- C'est le support de l'immunité. Dans la résistance cellulaire spécifique, le macrophage est activé par les lymphocytes immuno compétents. Fauve et Hevin (21) proposent comme un des mécanismes possibles l'activation d'un système enzymatique : le système acide ascorbique - transferrine qui libèrerait des ions ferreux qui en présence d'acide ascorbique donneraient naissance à des radicaux hydroxyles libres capables d'inhiber la multiplication bactérienne. La résistance cellulaire non spécifique ne serait due qu'à une stimulation des défenses de l'organisme. Rappelons qu'à cet égard, les endotoxines de certains germes (Salmonella typhimurium), les RNA poly IC sont aussi actifs que l'injection de BCG.

3°) - Rapports avec l'hypersensibilité retardée.

Ils sont mal éclairés.

- les petits lymphocytes à vie courte peuvent la transmettre.

- cependant, elle peut persister plusieurs années, ce qui serait en faveur de l'existence de cellules mémoires (petits lymphocytes recirculants) qui la supportent.

- enfin, il faut se souvenir que son maintien est conditionné par la persistance de germes vivants dans l'organisme (Rôle des macrophages ?).

4°) - Rôle des polynucléaires -

Ils ont un rôle plutôt néfaste dans la mesure où ils phagocytent les germes, mais sont incapables de les empêcher de se multiplier et les mettent ainsi à l'abri des macrophages. Une décroissance d'organismes viables n'apparaît que lorsque les lésions se peuplent de monocytes.

5°) - Action des corticoïdes (57) (North) -

L'administration de corticoïdes provoque :

a) l'accumulation de polynucléaires, défavorable au niveau du foyer infectieux.

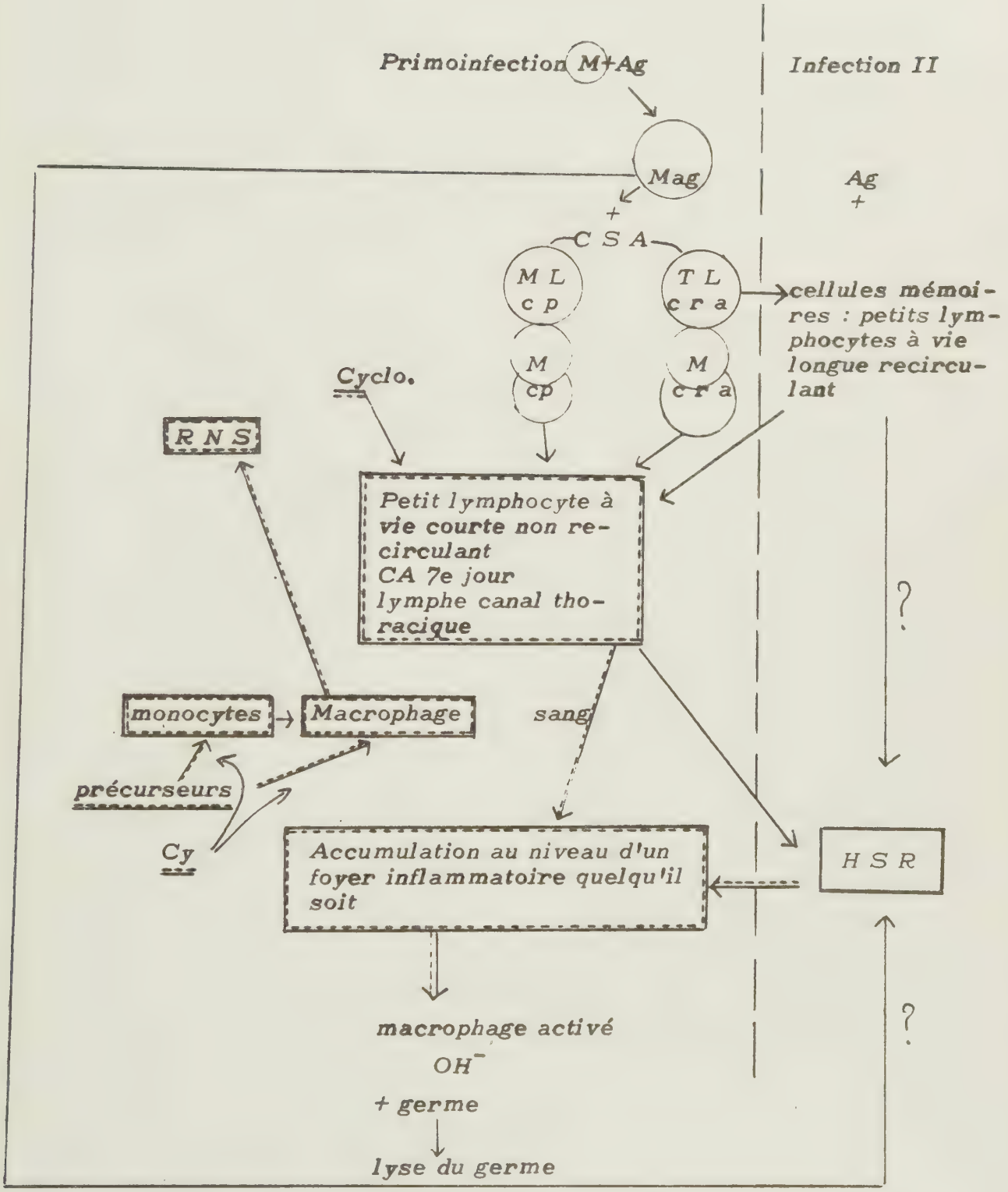
b) retarde et déprime :

- la division des cellules lymphoïdes.

- *la division des macrophages dans le foie.*
- *et l'accumulation des macrophages dérivés des monocytes dans les foyers infectieux.*

6°) - Rôle de la chimiothérapie immuno-dépressive:

En agissant sur les précurseurs du macrophage et sur les lignées lymphoïdes, la chimiothérapie intervient à tous les niveaux de la résistance cellulaire spécifique.



travaux Koster, Mac Gregor, Machaness.

IV - ETUDE CLINIQUE

L'infection par Listeria monocytogenes ne donne pas une maladie bien définie. On peut cependant regrouper les signes cliniques sous deux formes suivant l'âge : les formes de l'adulte et celles du nouveau-né.

Les formes de l'adulte (40) sont peu spécifiques, les plus caractéristiques étant les formes neurologiques : forme méningée aigue et forme neuroméningée grave.

. Les méningites aigues sont les plus fréquentes. Elles se présentent sous les traits d'un syndrome méningé franc immédiat ou retardé. Lorsqu'il est immédiat, le diagnostic est précoce et le pronostic est favorable, car, c'est essentiel, celui-ci est fonction de la précocité du traitement. Le liquide céphalorachidien peut être purulent. Il faut alors se méfier si la glycorrachie est normale, mais il peut également être clair ou à peine trouble. Il faut alors penser à une listeria devant une méningite lymphocytaire, surtout si la numération formule sanguine montre une polynucléose et une neutrophilie importante. Dans ce cas, le dosage de l'acide lactique est important car, s'il est normal dans une méningite aigue bénigne, il est ici augmenté.

Il existe également des formes méningées subaigues traînantes avec une symptomatologie assez fruste, lymphocytaire, faisant discuter une méningite tuberculeuse.

. On rencontre moins fréquemment les formes neuroméningées dont le tableau le moins grave est représenté par une méningoencéphalite (70), l'encéphalite étant caractérisée par une atteinte des paires craniennes, accompagnée de troubles de la conscience, de vomissements,

de céphalées. Le liquide céphalorachidien est trouble ou clair, le plus souvent avec une formule panachée. Les hémocultures sont souvent négatives. Le diagnostic différentiel se pose, avec une méningite tuberculeuse. Le pronostic est très grave, posé sur l'EEG.

Plus redoutables encore sont les formes comateuses (coma léger ou profond). Le liquide céphalorachidien est purulent ou trouble. Le retard thérapeutique fréquent aggrave le pronostic. Il faut noter dans ces cas la fréquence des atteintes pluriviscérales. Cela nous amène à parler des formes septicémiques, graves mais beaucoup plus rares. Burdin et Weber rapportent que sur 150 cas de listériose de l'adulte (méningites) on ne compte que 17 septicémies. Il existe alors souvent une ou plusieurs localisations viscérales. Plus fréquentes sont les septicémies à point de départ endocarditiques. Les hémocultures y sont positives dans la moitié des cas (67, 14, 43).

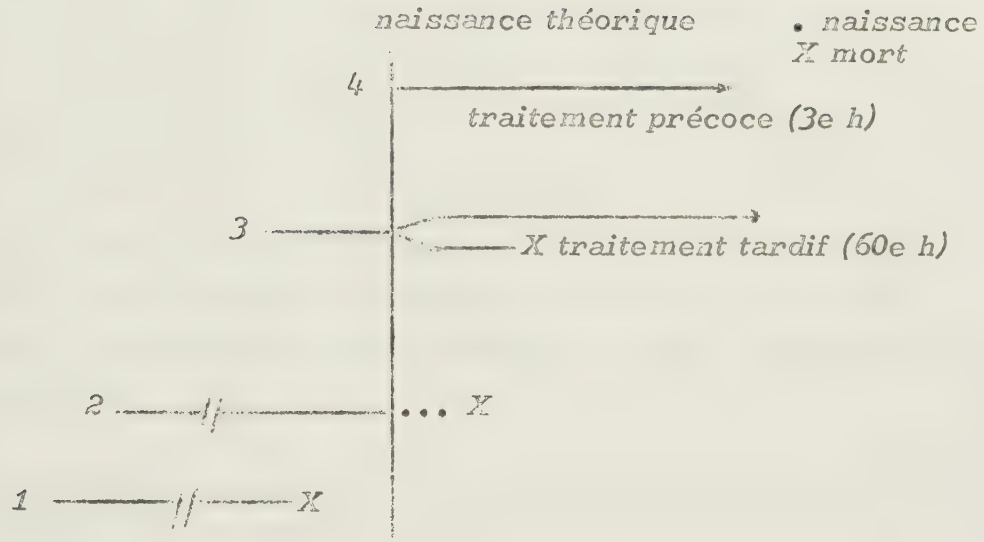
On a également décrit des formes à localisation pharyngée, cliniquement semblables à une mononucléose infectieuse, mais avec une réaction de Paul et Bunnel négative, des formes oculoglandulaires associent une conjonctivite, une parotidite, des adénopathies cervicales ; des formes cutanées, très rares, érythémateuses ou papulo pustuleuses (63). Très rares également sont les formes à localisations multiples. Layère et Moulin (41) ont décrit un syndrome septicémique avec fièvre de type ondulant n'ayant pas fait sa preuve bactériologique du vivant du malade. Le décès a eu lieu dans un tableau d'hépatonéphrite avec ictère grave. Le diagnostic a été fait post-mortem. Il s'agissait d'une listériose de l'adulte, de type septicémique avec localisations viscérales hépatorénales prédominantes, sans participation méningoencéphalique pendant toute l'évolution. Péricardite (25,

43, 67) et endocardites plus fréquentes ont également été décrites. On voit donc que, si la listériose se présente chez l'adulte le plus souvent sous la forme d'une localisation neuroméningée, il ne faut pas négliger pour autant les autres localisations, qu'elles soient graves (endocardites par exemple) ou bénignes (pharyngée). Il faut également retenir que l'âge grève le pronostic d'une façon importante. Si la mortalité est inférieure à 10 % chez les moins de 20 ans, elle passe à 55 % pour les plus de 60 ans.

. Nous avons fait une place à part à la listériose de la femme enceinte. Bénigne chez la mère, elle est grave par le retentissement qu'elle présente sur le foetus, car celui-ci est régulièrement infecté. Elle est responsable de 1, 6 % des cas d'interruption spontanée de la grossesse (23, 24).

Chez la mère, l'infection se présente le plus souvent sous la forme d'un syndrome pseudogrippal, d'autant plus évocateur qu'il n'existe pas d'épidémie. Mais il existe également des formes urinaires, digestives (douleurs de la fosse illiaque droite), quelquefois des formes totalement inapparentes. Comment affirmer alors l'infection ? La seule façon est la mise en évidence du germe par l'hémoculture, le CCB, le prélèvement des secrétions cervicovaginales, l'hémoculture étant la plus régulièrement positive, la sérologie étant alors décevante.

Lors de l'accouchement, si celui-ci est fébrile et prématuré, on recherchera systématiquement Listeria monocytogenes. On peut, suivant la date de contamination et le début du traitement, décrire quatre évolutions possibles, d'après le schéma emprunté à Laugillier, Audurier, Bardie, Desbuquiers (44).



Les mêmes auteurs, effectuant des prélèvements systématiques ont isolé le germe dans 71 % des cas dans le rectum ou meconium, 64 % dans le pharynx, 61 % dans le nez, 50 % dans l'ombilic, 67 % sur les conjonctives, 71 % par sonde nasogastrique, 83 % sur la peau, et 50 % dans les oreilles.

Giraud et Denis (24) s'attachent à l'examen bactétiologique du placenta, positif selon eux dans 94 % des cas.

. Mais ce qui fait l'importance de la listériose en pathologie humaine, c'est la gravité et la fréquence de l'infection néonatale. Selon Kunkel (38), sur une étude faite sur 1 000 nouveaux-nés sains, on a trouvé Listeria monocytogenes dans le méconium dans 0,3 % des cas (la fréquence s'élevant à 0,45 % chez les prématurés). D'après Meerback et Wöckel (51), sur un travail effectué entre 1957 et 1966, la listériose est responsable de 0,7 % des cas de mort périnatale. (0,2 % étant des morts nés et 1 % des nouveaux nés viables).

On peut distinguer deux formes de listériose qui répondent au schéma précédent : la forme néonatale précoce (7), la plus fréquente (80 %), notée au cours des quatre premiers jours et la forme tardive où les symptômes apparaissent vers le 7e jour. La forme précoce se traduit dans 50 % des cas par des signes de septicémie : hépatomégalie, splénomégalie, éruption cutanée pétéchiale, syndrome hémorragique, accompagnée souvent de signes de détresse respiratoire et de signes digestifs à type de syndrome occlusif pseudochirurgical et de résidu gastrique important.

Dans une observation portant sur 21 cas, Hension, Hummel et Coll (28) rapportent les chiffres suivants :

Détresse respiratoire (clinique et radio)	20
Gros foie	17
Signes neuroméningés	16
Signes abdominaux	13
Ictère	10
Paleur	9
Syndrome hémorragique	8
Eruption cutanée	8
Rate palpable	6

Une infection oculaire est également assez souvent associée (45, 50).

La forme la plus aigüe, décrite par Potel et Krebs sous le terme de granulomatis infantiseptica est peu fréquente. Arrigani, Pitzus en ont présenté trois cas en 68 (3).

Dans 25 % des cas, la forme précoce se traduit par une méningite aigue isolée. On trouve également des formes pulmonaires. Quelque soit la localisation, l'atteinte est toujours grave car l'issue est fatale dans 75 % des cas.

Par contre lorsque l'atteinte est tardive, on note 75 % de guérisons sous traitement. Le plus souvent il s'agit d'une méningité aigue, parfois d'une atteinte pulmonaire, l'infection se faisant dans le passage de la filière génitale par déglutition ou aspiration de liquide amniotique infecté. L'évolution se fait quelquefois vers la chronicité, avec hydrocéphalie. Citons enfin les formes atténuées et asymptomatiques décrites par Lelong et Alison (12) et découvertes par dépistage systématique.

. Nous ne pouvons clore ce chapitre sans parler de la listériose en temps qu'infection opportuniste. Simpson (85), présente plusieurs patients dont les défenses à l'infection sont altérées par des maladies telles que la maladie de Hodgkin, les leucoses, les cirrhoses, le diabète, ou des médicaments ayant les mêmes effets. Touraine (89) cite cinq cas de listériose après transplantation rénale. Ce même auteur étudie l'influence de l'immunodépression. Mocetti et Albert (52) font les mêmes constatations.

V - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

1°) - Isolement -

Le diagnostic du laboratoire repose essentiellement pour ce germe sur l'isolement. Cette méthode, présente toujours des erreurs par défaut, car il est souvent nécessaire d'employer des milieux sélectifs. Les autres techniques, anatomopathologiques, sérologiques et celles utilisant l'allergie cutanée présentent, celles des erreurs par excès ou par défaut (exemple d'erreur par excès : réactions croisées). Il faudra donc une convergence de leurs résultats pour pouvoir affirmer le diagnostic.

Le germe est isolé à partir de produits pathologiques variés : Liquide céphalorachidien, sang, meconium, prélèvements rhinopharyngés, ombilicaux, gastriques, cutanés, auriculaires comme nous l'avons vu plus haut (44), chez le nouveau-né. Chez l'adulte, on peut pratiquer des examens de selles (30), des prélèvements vaginaux, uretraux. On peut également isoler le germe à partir de produits anatomopathologiques : placenta, cerveau.

Dans la plupart des cas, sauf pour les hémocultures et les prélèvements de liquide céphalorachidien, il faudra utiliser des milieux sélectifs et des méthodes d'enrichissement.

La méthode la plus utilisée reste la méthode de Gray. Utilisant la propriété que possède le germe de se multiplier à + 4° C, on repique le produit pathologique réfrigéré, une fois par semaine pendant au moins trois mois. Cette méthode, qui augmente les résultats positifs dans de larges proportions, reste d'un emploi limité à cause de sa lenteur.

L'utilisation de milieux sélectifs, plus rapide, donne des résultats moins constants. On a récemment proposé l'emploi d'acétate de thallium et d'acide nalidixique (37) :

milieu TN : NB_2 : milieu de base + glucose 0, 2 %

+ acétate de thallium : 0, 2 % -

+ acide nalidixique : 40 mg/ml -

- de colorants à l'acridine (9) (Seeliger, Bockemuhl)

Milieu 1.	. Tryptose agar (difco)	41, 0 g	
	. Extrait de viande	3, 0 g	eau distillée 1000, 0 g
	. Thiocyanate de K.	37, 5 g	
	. Agar	10, 0 g	
Milieu 2.	. Tryptose Agar Difco	41, 0 g	
	. Acide nalidixique	0, 04 g	
	. Eau distillée	1000, 0 g	

L'acridine ajoutée à ces milieux était soit de l'Acriflavine neutre Cassella, soit de la Proflavine hémisulfate Cassella, soit de la Xanthacridine d'origine soviétique.

Plus récemment encore (16), on a proposé l'utilisation de milieux plus particulièrement défavorable à Streptococcus faecalis, germe qui accompagne fréquemment Listeria monocytogenes dans les produits pathologiques, qui résiste aux mêmes substances bactéricides et bactériostatique et qui se multiplie plus vite. Le milieu d'isolement est fait

de gélose nutritive (macération de viande, peptone) additionnée de rhamnose (1 %), sucre employé par Listeria monocytogenes et non par Streptococcus faecalis, auquel on ajoute de l'acide nalidixique (40 µg/ml) et de la polymyxine B (3 µg/ml), porté à 37°.

Le milieu d'enrichissement est fait avec de l'eau peptonée (peptone I BF 10g, Na Cl 5g eau 1000 ml ajustée à PH 7, 2 - 7, 7) à laquelle on ajoute après stérilisation :

Rhamnose 1 $^{0}/_{00}$
Acide nalidixique : 40 µg/ml
Polymyxine B : 3 µg/ml
Bleu de méthylène : 0, 02 g/1000.

Streptococcus faecalis et Listeria monocytogenes réduisent le bleu de méthylène à l'aide de flavo protéines ce qui bloque le processus des phosphorylations oxydatives : la réoxydation du bleu de méthylène par l'oxygène libre aboutit à la formation d'eau oxygénée particulièrement toxique pour les bactéries qui ne possèdent pas de catalase comme c'est le cas de Streptococcus faecalis.

D'autre part, la culture s'effectue à 15°C, température à laquelle le taux de croissance des Listeria est un peu supérieur à celui des streptocoques.

La méthode consiste à inoculer le milieu d'enrichissement avec un inoculum faible. On incube 6 à 8 jours à 15°C. On repique à nouveau sur milieu d'enrichissement et l'on incube 5 à 10 jours à 15°C. Puis on isole sur milieu solide. On incube 16 à 18 h à 37°C.

2°) - Diagnostic Sérologique -

L'isolement du germe, d'un intérêt capital pour affirmer le diagnostic, à cause des délais nécessaires à la culture est quelquefois trop lent pour le clinicien. On a donc cherché à employer des méthodes sérologiques, plus rapides. Celles-ci ont donné lieu à de nombreux travaux, c'est dire leur importance, mais aussi leur inefficacité relative. En effet, on peut découvrir des taux d'anticorps très élevés chez des sujets sains. Inversement, dans des états infectieux patents, où l'on a isolé le germe, l'absence d'anticorps. Peut-être l'explication réside-t-elle dans la communauté antigénique avec Streptococcus faecalis et Staphylococcus aureus.

a) - Méthodes spontanément visibles :

- Agglutination : Elles présentent quelques difficultés du fait du manque de standardisation ainsi que de la tendance spontanée des antigènes à l'autoagglutination et des communautés antigéniques. Il faut donc, au préalable, effectuer une absorption croisée avant de considérer les agglutinines comme spécifiques (Seeliger) (80). On suggère comme significative des taux au 1/160.

Selon Despierres (15) cette méthode n'est pas mauvaise car elle fait appel aux sites antigéniques les plus superficiels, et les sites les plus superficiels de la paroi des bactéries sont les plus spécifiques de l'espèce en cause ; ils masquent les sites responsables des réactions croisées. Cet auteur propose une méthode d'agglutination sur gélose plus précise. Elle consiste à cultiver des souches de type 1 et 4 b employées comme antigène, sur gélose nutritive en présence du sérum à examiner et dans un deuxième temps, à rechercher l'intensité et la rapidité de leur agglutination en eau physiologique.

b) - Méthodes rendant visibles la réaction Antigène - Anticorps :

- Le test de fixation du complément est considéré comme plus spécifique par Seeliger (76, 77) qui a fait une étude sur 641 sérums humains. Il peut suffir au diagnostic (54, 96). Les titres de 1/20 et plus sont considérés comme positifs.

- L'hémagglutination indirecte (74) est une meilleure méthode, si on utilise comme antigène des extraits listériens par le formamide selon la technique de Fuller. Les auteurs utilisent des hématies de mouton tannées au tanin-acide. Leur expérience porte sur 214 sérums.

c) - Toujours en vue d'une plus grande spécificité, on a utilisé une méthode ne dosant que les immunoglobulines G. On sait que les IgG, si elles témoignent d'une infection ancienne, sont plus spécifiques que les IgM. On détruit donc les IgM par l'action d'une substance : le 2 Mercapto ethanol (77). Seeliger a fait une étude sur 253 sérums humains et 143 sérums animaux. Brandis et Werner (11) sur 2 950 sérums de malades : aucun anticorps fixant le complément mais 94, 2 % des sérums contiennent des agglutinines sensibles à l'action du 2 mercaptoéthanol. On voit donc l'augmentation de la spécificité obtenue par le traitement des sérums.

. D'autre part, on sait que Listeria monocytogenes étant un germe mobile, possède des Antigènes H que ne possèdent pas Streptococcus faecalis et Staphylococcus aureus. Un des tests les plus faciles à mettre en oeuvre utilisant cette propriété est le test agglutination-immobilisation proposé par Potel et repris par Braveny (10). La technique utilisée est la suivante :

a) préparation de l'Antigène : boite de Petri inoculée puis recouverte avec assez de bouillon nutritif. Incubation des boites à 22° C pendant 24 h. On contrôle la bonne mobilité de la culture.

Puis on sépare le "gazon" de microbes et on dilue en général au 1/20. On emploie 0, 1 ml d'Antigène.

b) Sérums. Ils sont dilués dans du bouillon nutritif (la dissolution dans Na Cl physiologique se montre impropre à cause de la tendance à l'agglutination spontanée).

c) Après mélange, on met à incuber dans une chambre humide à 37° pendant 10' et on lit le résultat.

d) Lecture. On peut mettre 3 à 4 gouttes de mélange à des dilutions différentes sur un porte-objet. On observe en contraste de phase, sur fond sombre.

- Négatifs : microbes mobiles sans formation d'agglutinats.
- Positifs : Pas de microbes mobiles. Les microbes sont agglomérés, en agglutinats plus ou moins grands, plus ou moins relachés.
- Comme frontière, on désigne la dilution de sérum à laquelle on peut encore reconnaître des agglutinats directs, mais aussi des microbes individuels largement mobiles.

Il faut noter que :

. Des concentrations en sérum supérieures à 1/25 ne sont pas recom-

mandées à cause du développement d'agglutinats non spécifiques.

- Les germes immobiles (staphylocoques etc.) n'agglutinent pas.
- La méthode est quatre fois plus sensible que celle d'agglutination simple.
- Elle est indépendante du complément.

La difficulté réside dans la standardisation : difficulté d'avoir une densité antigénique fixe d'un examen à l'autre. Braveny propose le repiquage de la culture toutes les 48 h en proportion de 1/10.

- Les autres techniques, isolant l'antigène H, et ne recherchant que les IgC antiflagellaires, si elles sont d'une efficacité remarquable, sont beaucoup trop couteuses pour un laboratoire de routine.

On peut rappeler pour comparer ces méthodes, la sensibilité exprimée en μg d'azote anticorps/ml de sérum, des principales réactions Ag-Ac :

Agglutination bactérienne : 0,01 à 0,02 μg
Agglutination passive : 0,003 à 0,005 μg
Fixation du complément : 0,1 μg.

3°) - <u>L'immunofluorescence</u> -

a) - <u>Méthodes</u> -

- Dans le principe on utilise une substance appelée fluorochrome qui possède la propriété d'émettre un rayonnement dans le spectre visible lorsque ses molécules sont soumises à une émission UV. On com-

ploie habituellement l'isothiocyanate de fluoresceine, mais on peut également employer la fluoresceine ou la rhodamine. Il s'agit d'une petite molécule dialysable : c'est ainsi qu'on peut séparer fluorochrome libre et fluorochrome conjugué.

. Une ou plusieurs molécules de ce corps sont conjuguées aux molécules de globuline d'un sérum. La liaison s'effectue de façon covalente avec les groupements NH_2 libres de la lysine des protéines à conjuguer.

. Anticorps ces globulines se fixent sur un antigène, une Listeria en l'occurence, la rendant ainsi lumineuse. Examinée avec un microscope dont le seul éclairage est une lumière UV, elle apparaît lumineuse et verdâtre contrastant sur un fond noir. On protège l'oeil de l'observateur avec un filtre laissant passer la lumière visible mais arrêtant les UV.

. Antigène, elle se fixe sur un anticorps révélant ainsi sa présence.

. En immunofluorescence directe, on conjugue l'isothiocyanate de fluoresceine avec les globulines d'un immun-sérum, polyvalent antilistérien. La méthode est précise, et à moins d'une communauté antigénique avec un autre germe, toute Listeria sera visible. Le procédé a été primitivement utilisé pour la recherche des Listeria dans le LCR (20). On peut ainsi inspecter avec un objectif à grand champ une grande surface pour mettre en évidence un petit nombre de germes. La méthode, appliquée à la recherche de germes dans le meconium est la même que celle utilisée pour le diagnostic des colibacilles entéropathogènes. Mais la technique réclame l'utilisation d'un sérum strictement antilistérien.

. Le procédé d'immunofluorescence indirecte est plus généralisé. On fabrique un sérum antiglobuline, sérum que l'on rendra fluorescent. On emploie alors pour détecter le germe un sérum polyvalent antilistérien.

Les anticorps de celui-ci se fixent sur la bactérie. Ces anticorps jouent le rôle d'Antigène vis à vis des globulines fluorescentes qui se fixent alors sur eux, rendant ainsi le germe fluorescent indirectement. Naturellement, ces sérums peuvent être employés à d'autres fins : recherche d'anticorps, d'autres germes.

b) - Spécificité de l'immunofluorescence (63) -

On peut faire :

a) des erreurs par excès de positivité.

1. Autofluorescence : c'est le cas de la cellulose, du tissu cérébral, des cellules des tubes contournés des reins, des fibres élastiques. Il faut un témoin non traité par le fluorochrome.

2. Présence de fluorochrome libre dans les réactifs commerciaux : 0, 2 à 3, 7 % dans 6 préparations commerciales examinées par le National Bacteriological Laboratory. Ce fluorochrome s'absorbe facilement par les protéines aussi bien acides que basiques.

3. Présence de fractions sériques non immunoglobuliniques dans les conjugués (lipoprotéines , albumine). La majorité des conjugués n'offrent pas sous cet angle les garanties nécessaires à la fois :

- par la présence de lipoprotéine et d'albumine conjuguées de l'animal producteur de sérum.

- par la présence d'anticorps antilipoprotéine et d'albumine de l'animal fournissant le sérum spécifique.

Mais on peut aisément pallier toutes ces causes de non spécificité en fractionnant les immunoglobulines sur DEAE cellulose, ce qui permet d'obtenir des IgG rigoureusement pures.

4. Cytophilie des IgG : sur les colorations de tissus, les IgG se fixant aux cellules par le fragment Fc. Ceci est particulièrement important dans le cas de l'immunofluorescence indirecte où la cytophilie devrait intervenir à 2 niveaux. Les IgG fixées dans le premier temps sont révélées par le sérum anti IgG fluorescent, et celui-ci dans le second temps apporte son propre contingent d'IgG cytophiles conjuguées.

5. Les impuretés : elles diminuent la spécificité.

6. Interactions entre immunoglobulines et certains constituants cellulaires. Exemple : Protéine A du staphylocoque et IgG. C'est le fragment Fc des IgG qui intervient ($IgG_{1,\ 2\ et\ 4}$).

7. Effet de charge. Cet effet est la propriété que possèdent les molécules d'Ig, plus ou moins électronégatives et surtout les Ig conjuguées de se fixer par des liaisons strictement électrostatiques à toute molécule positivement chargée. Il est nul pour les préparations bactériennes.

b) réactions négatives par défaut.

1. Causes tenant à la préparation elle-même et à son traitement.

Par exemple l'emploi de fixateurs augmentent l'autofluorescence. Certains antigènes hydrosolubles diffusent. L'emploi de sels de métaux lourds, comme fixateur, abolit la fluorescence.

2. Causes tenant aux anticorps eux-mêmes :

- Anticorps non conjugués bloquant les antigènes. Phénomène de prozone.

c) Emploi de l'immunofluorescence pour le diagnostic biologique de la listériose.

- On peut effectuer l'examen direct des produits pathologiques :

. l'examen du LCR permet un diagnostic rapide s'il y a peu de germe.

Avec un sérum spécifique on peut même typer la souche.

. De même on peut examiner le meconium, les prélèvements anatomopathologiques.

- La méthode d'immunofluorescence directe appliquée à l'identification de Listeria monocytogenes dans les frottis et les organes infectés a été étudié en détail par Sacco (72, 73). Cet auteur a vérifié qu'il n'y avait pas de fluorescence croisée avec Erisypelothrix insidiosae, Bacillus Subtilis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis. Seule une coloration tenue avec l'entérocoque a été obtenue.

De même, Syrtmadjev (86) conclut à l'efficacité de l'immuno-

fluorescence indirecte pour le diagnostic rapide des formes septicémiques et encéphalitiques, et à son utilité pour le typage de Listeria monocytogenes. Biljic (8) utilise également cette méthode dans le diagnostic différentiel entre Listeria monocytogenes et Erisypelothrix insidiosae.

4°) - Des méthodes utilisant l'hypersensibilité retardée peuvent être utilisées pour le diagnostic de la listériose. Egovora, Martinski (18) utilisant un lysat de culture sur agar-agar, par voie intradermique, obtiennent des réactions positives chez la moitié des patients atteints de listériose. Ils considèrent que la réaction est positive s'il y a hyperhémie et oedème de la peau avec un diamètre d'au moins 20 mm, développé en 24 h et n'étant pas disparu à la 48e h, les faibles réactions ne pouvant être prises en considération qu'en présence de données convaincantes d'examens sérologiques (hauts titres en anticorps ou leur augmentation).

5°) - Enfin, on peut faire appel aux méthodes anatomopathologiques dans les cas difficiles. Le test d'Anton, l'examen microscopique des nodules listériens, très spécifiques, sont alors utiles au diagnostic.

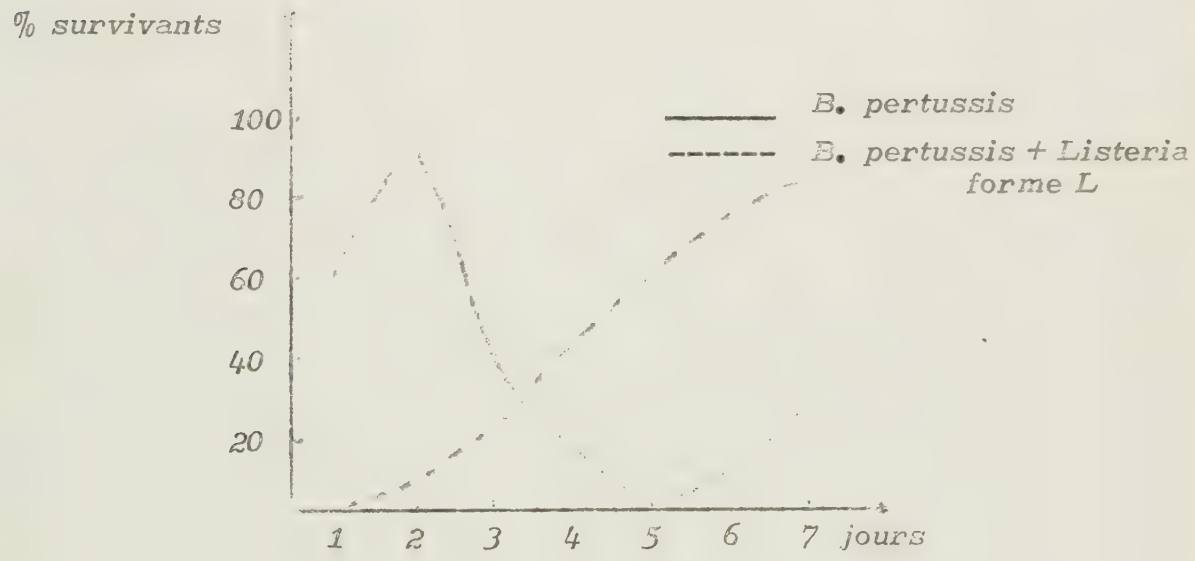
VI - PROPHYLAXIE ET TRAITEMENT

Listeria monocytogenes est un germe que l'on rencontre de plus en plus fréquemment. La gravité de l'infection chez la femme enceinte fait rechercher la mise au point d'une vaccination (4). Mais l'immunité qui est de type cellulaire nécessite l'emploi de germes vivants. On a donc tenté d'utiliser des formes L de Listeria :

- l'injection intrapéritonéale d'une culture de Listeria forme L, semble provoquer une augmentation assez faible de la résistance à l'infection listérienne.

- l'effet protecteur est cependant remarquablement potentialisé par l'adjonction de Bordetella pertussis "vacaire".

- l'injection de Bordetella pertussis "vacaire" seule provoque l'apparition d'une résistance non spécifique qui décroît rapidement dans les jours qui suivent :



C'est un germe qui est encore sensible à la plupart des antibiotiques, du moins à l'antibiogramme. Aujourd'hui, on emploie de préférence l'ampicilline à cause de sa faible toxicité et de sa grande diffusion. Il faut noter la résistance naturelle de ce germe à l'acide nalidixique qui ne devrait pas être employé pour le traitement des infections urinaires de la femme enceinte, car on peut se demander s'il ne favorise pas la sélection des Listeria.

CONCLUSION

Listeria monocytogenes est un germe ubiquitaire, résistant, vivant aussi bien chez l'animal que chez l'homme, que dans le milieu extérieur. De ce fait, il se comporte le plus souvent comme un saprophyte. Sa virulence n'est donc pas tant une propriété du germe, qu'un effet secondaire à un affaiblissement des défenses immunitaires de l'hôte. Certes, il existe bien des souches de plus haute virulence dotées de toxines plus actives, mais le caractère très fréquemment opportuniste de l'infection met bien en évidence le rôle du malade. L'immunité vis à vis de Listeria monocytogenes est de type cellulaire : les macrophages sont le support de l'immunité. Ils sont activés par les petits lymphocytes à vie courte qui sont les vecteurs de la spécificité et qui, avec les macrophages sont présents dans tout foyer inflammatoire, comme l'ont démontré les travaux de Mackaness. Cependant, de nombreux points sont encore obscurs : la façon dont cette immunité est conservée, en particulier, ses rapports avec l'hypersensibilité retardée.

Les formes cliniques de listériose sont maintenant bien connues. Leur caractère peu spécifique, souvent inapparent chez l'adulte, conduit à rechercher systématiquement le germe, lors d'un syndrome fébrile chez la femme enceinte, à cause de la gravité de l'infection foetale. En effet, un diagnostic précoce est nécessaire pour un traitement précoce, seul efficace. Cependant, il faut isoler le germe pour pouvoir affirmer l'infection.

Le diagnostic sérologique classique est très contestable à cet égard. C'est pourquoi de nombreuses techniques plus ou moins compliquées sont proposées. Le test Immobilisation - Agglutination, les techniques d'immunofluorescence apporteraient peut-être une amélioration.

Nous avons tenté de faire le point sur quelques travaux récents. L'infection listérienne demeure mal connue, notamment en ce qui concerne l'épidémiologie et les mécanismes immunitaires. L'importance - et la difficulté - d'un diagnostic bactériologique précoce suscitent également de nombreux travaux qui doivent apporter dans les prochaines années une solution pour un traitement efficace de cette maladie particulièrement grave chez la femme enceinte.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ALEKSEEV. GREBENJUK. CHIROV. KADYSHEVA.

Sur les relations réciproques entre l'agent de la listériose et les puces suceuses de sang. (EN RUSSE).
Parazitologija S.S.S.R. 1971. 5. 2. 113-118.

2 - AMARIEI. ROSCA.

Observations concernant les modifications anatomo-cliniques installées au niveau de l'oeil dans l'infection expérimentale par Listeria monocytogenes chez les cobayes et les lapins. (EN ROUMAIN).
Oftalmologia Roman. 1971. 15. 1. 25-30.

3 - ARRIGONI. PITZUS. FIACCAVENTO. TAMPALINI.

La listeriosi neonatale.
Folia Hered. pathol. ital. 1968. 17. 4. 139-154.

4 - BARTLEMA. BRAUNIUS.

Studies on vaccination against Listeria infections.
Antonie Van Leeuwenhoek Nederl. 1971. 37. 2. 261-262.

5 - BAYLET. DIOP.

Recherches effectuées sur l'infection listérienne au Sénégal (bactériologie et sérologie)
Bull. soc. pathol. exot. fr. 1971. 64. 3. 266-273.

6 - BAYLET. DIOP.

Recherches sérologiques sur la listériose des animaux domestiques au Sénégal.
Bull. soc. path. exot. fr. 1971. 64. 3. 273-277.

7 - BECROFT. FARMER. SEDDON. SOWDEN. STEWART. VINES. WATTIE.

Epidemic listeriosis in the newborn.
Brit. med. j. G.B. 1971. 5777. 747-751.

8 - BILJIC. ERSKI.

Immunofluorescence dans le diagnostic différentiel de Listeria monocytogenes et Erisypelothrix insidiosae. (EN SERBO-CROATE).
Veter. Glasn. Jugosl. 1972. 26. 2. 103-107.

9 - BOCKEMUHL. SEELIGER. KATHKE.

Acridinfarbstoffe in Selektivnährböden zur Isolierung von Listeria monocytogenes.
Med. Microbiol. Immunobiol. Germ. 1971. 157. 1. 84-95.

10 - BRAVENY.

Beitrag zur Serodiagnostik der Listeriose Agglutinations-Immobilisations test.
Arch. hyg. Bakteriol. Dtsch. 1969. 153. 4. 374-379.

11 - BRANDIS. WERNER. VIEBAHN.

Erfahrungen mit der chemischen Immunglobulindifferenzierung bei der Serodiagnostik der Listeriose.
Klin. Wschr. Dtsch. 1971. 49. 17. 989-992.

12 - BURDIN. WEBER.

Aspects actuels de la listériose humaine.
Bull. Inst. Pasteur. Fr. 1972. 70. 1. 73-102.

13 - DAVIS. FOMIN. WILSON. NEWTON.

Numerical taxonomy of Listeria, Streptococci, and possibly related bacteria.
J. Gen. Microbiol. 1969. 57. 3. 333-348.

14 - DE SOLDATI. ALESCIO. COLA.

Bacterial endocarditis due to Listeria monocytogenes.
Cardiology Switz. 1972. 57. 3. 172-180.

15 - DESPIERRES.

Diagnostic sérologique des listérioses à l'aide d'une réaction d'agglutination sur gélose.
Ann. Inst. Pasteur. Fr. 1971. 121. 4. 503-526.

16 - DESPIERRES.

Isolement de Listeria monocytogenes dans un milieu défavorable à Streptococcus faecalis.
Ann. Inst. Pasteur Paris Fr. 1971. 121. 4. 493-501.

17 - DIOP. BAYLET.

Bilan des recherches cliniques et épidémiologiques sur l'infection listérienne au Sénégal.
Med. Afr. Noire Sénégal 1971. 18. 11. 809-811.

18 - EGOROVA. MARTINSHIN. MALYSHEV.

Signification diagnostique de la réaction allergique intra-dermique dans le cas de la listériose. (EN RUSSE).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. SSSR. 1970. 47. 2. 62-67.

19 - ELISHEROVA. CIZNAR.

Phosphatase activity of Listeria monocytogenes. Preliminary report.
J. Hyg. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol. Czechosl. 1970. 14. 1. 119-120.

20 - EVELAND.

Demonstration of Listeria monocytogenes in direct examination

of spinal fluid by fluorescent antibody technique.
J. Bact. USA. 1963. 85. 1448-1450.

21 - FAUVE. HEVIN.

Pouvoir bactéricide des macrophages spléniques et hépatiques de souris envers Listeria monocytogenes.
Ann. Inst. Pasteur 1971. 120. 399-411.

22 - GHOSH. MURRAY.

Fractionation and characterization of the plasma and mesosome membrane of Listeria monocytogenes.
J. Bacteriology. USA. 1969. 97. 1. 426-440.

23 - GIRAUD. DENIS.

Listeria monocytogenes et grossesse.
Nouv. Presse Médicale Fr. 1973. 2. 4. 211-213.

24 - GIRAUD. DENIS.

Listériose. Incidence dans les interruptions spontanées de la grossesse.
Nouv. Presse Médicale Fr. 1973. 2. 4. 215-218.

25 - GOASGUEN. COSTESEQUE. JOSSERAND. ODDOU. PAILLET. SAGNET.

Septicémie avec endocardite à Listeria monocytogenes chez un enfant biafrais âgé de 10 ANS.
Méd. trop. Fr. 1969. 29. 6. 699-701.

26 - GOYON.

La listériose animale dans le département de la Sarthe.
Rec. Med. Veter. Ec. Alfort Fr. 1972. 148. 8. 949-958.

27 - GRANGEPONTE. PELLETIER. COQUERY. JOBARD.

Etude anatomo-pathologique des listérioses humaines.
Sem. Hôp. Fr. 1971 47. 43-44. 2503-2508.

28 - HENRION. AMIEL-TISON. LAROCHE. MINKOWSKI.

A propos de la symptomatologie digestive des listérioses.
Bull. Fédér. Soc. Gynécol. Obstétr. Langue fr. Fr. 1971. 23. 3. 282-286.

29 - HILL.

The influence of the cellular infiltrate on the evolution and intensity of delayed hypersensitivity reactions.
J. Exp. med. USA. 1969. 129. 2. 363-370.

30 - KAMPELMACHER. VAN NOORLE. JANSEN

Isolation of Listeria monocytogenes from faeces of clinically

healthy humans and animals.
Zbl. Bakteriol. Parasitenkde infekt. Krankh. Hyg. I. Dtsch. 1969. 211. 3. 353-359.

31 - KONSTANTINOVA. SHLYGINA. SHAKHANINA.

Mise en évidence de la localisation de l'antigène à la surface de Listeria monocytogenes et à l'intérieur au moyen d'anticorps marqués à la ferritine. (EN RUSSE).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. SSSR. 1971. 48. 5. 82-85

32 - KOSARIC. CARROLL.

Phospholipids of Listeria monocytogenes.
Biochim. biophys. Acta. Pays-Bas. 1971. 239. 3. 428-442.

33 - KOSTER. Mc GREGOR. MACKANESS.

The mediator of cellular immunity. II. Migration of immunologically commited lymphocytes into inflammatory exudates.
J. Exp. Med. USA. 1971. 133. 2. 400-409.

34 - KOSTER. Mc GREGOR.

The mediator of cellular immunity. III. Lymphocyte traffic from the blood into the inflamed peritoneal cavity.
J. Exp. Med. USA. 1971. 133. 4. 864-876.

35 - KOSTER. Mc GREGOR.

The mediator of cellular immunity. IV. Cooperation between lymphocytes and mononuclear phagocytes.
Cell. Immunol. USA. 1971. 2. 4. 317-325.

36 - KOTLJAROVA. PROZOKOVSKIJ. BAKULOV. CHEVELEV.

Propriétés biologiques des formes de Listeria monocytogenes. (EN RUSSE).
Vest. Akad. Med. Nauk. SSSR. 1969. 24. 5. 84-90.

37 - KRAMER. JONES.

Media selective for Listeria monocytogenes.
J. Appl. Bacteriol. G. B. 1969. 32. 3. 381-394.

38 - KUNKEL.

Nachweiss von Listeria monocytogenes bei gesunden Frühund Neugeborenen.
Zbl. Gynäkol. Dtsch. 1970. 92. 24. 779-784.

39 - KUNZE.

Muramidase Bildung durch Listeria monocytogenes.
Zbl. Bakteriol. Parasitenkde Infekt. Krankh. Hyg. I. A. Dtsch. 1971. 218. 2. 249-250.

40 - LAMISSE. GAUTIER. TESTE. DEGIOVANNI.

Les formes cliniques de listériose de l'adulte.
Sem. Hôp. Fr. 1971. 47. 43-44. 2481-2487.

41 - LAPEYRE. MOULIN. KERMAREC. BOCHOT.

Réflexion à propos d'une forme rare de listériose de l'adulte.
Marseille Méd. Fr. 1970. 107. 2. 141-147.

42 - LASINSKAJTE. CHERKASHIN.

Quelques propriétés de la toxine de Listeria monocytogenes évaluées chez les animaux adrénalectomisés. (EN RUSSE).
Zh. Mikrobiol Epidemiol. Immunobiol. SSSR. 1972. 49. 49. 97-100.

43 - LATOUR. PUECH. BALMES. CABASSON. GROLLEAU.

Endocardite à Listeria monocytogenes.
Coeur Méd. Interne Fr. 1970. 9. 1. 59-67.

44 - LAUGIER. AUDURIER. BARDIE. DESBUQUOIS.

Listérioses néo-natales.
Ouest médical Fr. 1972. 25. 10. 975-980.

45 - LAUGIER. BORDERON. ROLLAND. DESBUQUOIS.

La listériose du nouveau-né.
Sem. Hôp. Fr. 1971. 47. 43-44. 2495-2498.

46 - LE GUOUGUEC. TOULOUSE. DUBOIS. TOUSSAINT. KERISIT.

La listériose de la femme enceinte.
Intérêt de l'hémoculture.
Prophylaxie de la listériose néo-natale.
Bulletin Féd. Soc. Gynécol. Obst. Langue fr Fr. 1971. 23. 2. 214-218.

47 - Mc GREGOR. KOSTER. MACKANESS.

The mediator of cellular immunity. I. The life-span and circulation dinamics of the immunologically commited lymphocyte.
J. Exper. Med. USA. 1971. 133. 2. 389-399.

48 - MAUPAS. PHILIPPON. AUDURIER. BORDERON. BOULARD.

Epidémiologie et pathogénie des listérioses.
Sem. Hôp. Fr. 1971. 47. 43-44. 2475-2480.

49 - MAUPAS. PHILIPPON. AUDURIER. BOULARD.

Epidémiologie et pathogénie des listérioses.
Econ. Med. Animales Fr. 1972. 13. 3. 159-169.

50 - MANSCHOT.

Congenital listeriosis with ocular involvement.
Ophtalmologica Suisse. 1971. 162. 3. 167-172.

51 - MEERBACH. WOCKEL.

Zu einigen Fragen der perinatalen Listeriose.
Zbl. Allg. Pathol. Anat. Dtsch. 1969. 112. 2. 97-104.

52 - MOCCETTI. ALBERT. WEGMANN. SCHEITLIN.

Listeriosis nach Nierentransplantation.
Schweiz med. Wschr. 1969. 99. 32. 1147-1151.

53 - MOULIAS. BERTHAUX.

Populations cellulaires responsables de la réponse immunitaire.
Rev. Praticien Fr. 1971. 21. 6. 839-860.

54 - NALEWSKI. ROTHENBERG.

Ein Beitrag zur standardisierten Serodiagnostik der Listeriose
u unter besonderer Berücksichtigung von Immunisierungsversuchen
an Meerschweinchen.
Z. Ges. Hyg. Dtsch. 1969. 15. 8. 585-589.

55 - NICOLAS. PESTRE-ALEXANDRE. KIRMAIER. TAILLANDIER.

Contribution à l'étude de la listériose, maladie alimentaire. Relation entre l'alimentation par ensilage et la listériose ovine.
Rev. méd. Vétér. Fr. 1972. 123. 1. 61-70.

56 - NORTH.

The relative importance of blood monocytes and fixed macrophages to the expression of cell-mediated immunity to infection.
J. EXP. Med. 1970. 132. 3. 521-533.

57 - NORTH.

The action of cortisone acetate on cell-mediated immunity to infection. Suppression of host cell proliferation and alteration of cellular composition of infective foci.
J. Exp. Med. USA. 1971. 134. 6. 1485-1500.

58 - ORTEL.

Ausscheidung von Listeria monocytogenes im Stuhl gesunder Personen.
Zbl. Bakt. Parasitenkde infect. Krankh. Hyg. I. Dtsch. 1971. 217. I. 41-46.

59 - OSEBOLD. AALUNG. CHRISP.

Chemical and immunological composition of surface structures

of Listeria monocytogenes.
J. Bacterioloj. USA. 1965. 89. I. 84-88.

60 - PEASE.

Bacterial L forms in the blood and joint fluids of arthrities subjects.
Annal. Rheumat. Dis. G. B. 1969. 28. 3. 270-274.

61 - PETERMANN. WEINGARTNER.

Neugeborenen Listeriose ein epidemiologisches Problem.
Acta paed. Acad. Sci. Hungar. Hongr. 1971. 12. 1. 31-42.

62 - PILLOT.

Spécificité et fidélité des réactions d'immunofluorescence.
Bull. Inst. Pasteur Fr. 1972. 70. 4. 353-374.

63 - POMARSKAJA. LAZAREVA.

Isolement de culture de Listeria monocytogenes à partir d'un malade atteint de listériose cutanée au moyen de la méthode de tests biologiques sur des souriceaux nouveaux-nés. (EN RUSSE).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. SSSR 1970. 47. 5. 40-42.

64 - PORTALIMOV.

La libération de Listeria monocytogenes à partir de la viande et

organes de porcs dont le foie est de couleur jaune-gris. (EN RUSSE)
Gigi. Sanit. SSSR. 1970. 35. 110-111.

65 - PUSTOVAJA.

Contamination croisée des oiseaux par Listériose. (EN RUSSE).
Vitermarija. SSSR. 1971. 1. 56-57.

66 - PUSTOVAJA.

Rôle des tiques dans la transmission des listérioses aux oiseaux.
(EN RUSSE).
Dokl. Akad. Nauk. tadzhik. SSR. SSSR. 1971. 104. 72-73.

67 - QUIRET. BENS. LIENARD. LAURANS. ORFILA. LESBRE.

Endocardite à Listeria monocytogenes (à propos d'un cas).
Arch. Mal. Coeur Vaiss. Fr. 1972. 65. 6. 765-775.

68 - RACZ. TENNER. MERO.

Experimentelle cystitis listeriosa. I. Lichtmikroskopische Untersuchungen.
Virschows. Arch. B. Dtsch. 1971. 8. 2. 96-105.

69 - RALOVICH. FORRAY. MERO. MALOVICS.

Additional data on diagnosis and epidemiology of Listeria infections.

Zbl. Bakteriol. Parasitenkde infekt Krankh. Hyg. I. Dtsch. 1970. 214. 2. 231-235.

70 - RAU. VOEGT.

Listerienmeningoenzephalitis und -sepsis in hohen Alter. Med. Welt. Dtsch. 1972. 16. 613-616.

71 - ROLLAND. MORAINE. BERGER. LAUGIER. SOUTOUL. DES-BUQUOIS.

Les formes inapparentes de listériose néo-natale intéressant le gynécologue accoucheur.
Bull. Féd. Gyn. Obst. lang. fr. Fr. 1971. 23. 2. 219-221.

72 - SACCO.

Identificazione di Listeria monocytogenes in organi infetti mediante anticorpi fluorescenti.
Atti. Soc. ital. Sci. veter. Ital. 1971. 25. 504-506.

73- SACCO. VERCELLOTTI.

La immunofluorescenza per la identificazione di Listeria monocytogenes in tissuti di animali da laboratorio sperimentalemente infettati.
Bact. Virol. immunol. Ital. 1968. 61. 11-12. 415-422.

74 - SCHMIDT. KUNKEL.

Verhütung und Bekämpfung übertagbarer Krankheiten. Die indirekte Hämagglutination für Serodiagnostik der Listeriose.
Z. ges. Hyg. Grenzgeb. Dtsch. 1971. 17. 12. 898-903.

75 - SEELIGER. FINGER. DIGOH.

Zur Epidemiologie der Listeriose. Listeria Titerverteilung bei verschiedenen Bevölkerungsgruppen.
Münch. Med. Wschr. 1969. 111. 41. 2077 - 2081.

76 - SEELIGER. FINGER. KLUTSCH.

Untersuchungen zur Bedeutung des Antigen-Fixation testes für die Serodiagnostik der Listeriose.
Zbl. Bakteriol. Parasitenkde. Infect. Krankh. Hyg. Dtsch. 1969. 211. 2. 215-224.

77 - SEELIGER. EMMERLING.

Zur Vorkommen 2-Mercaptoäthanol-resistenter und empfindlicher Listeria-Agglutinine in Human und Tierseren.
Z. Med. Mikrobiol. Immunol. Dtsch. 1970. 155. 3. 218-227.

78 - SENEZ.

Microbiologie générale. Fr. Ed. DOIN. 1968. 127.

79 - SHLYGINA. KONSTANTINOVA.

Détermination par la méthode à la ferritine de la localisation de chacun des facteurs de l'antigène somatique de Listeria monocytogenes. (EN RUSSE).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. SSSR. 1972. 49. 1. 133-137.

80 - SHLYGINA.

Spécificité des méthodes de diagnostic sérologique dans la listériose. (EN RUSSE).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. SSSR. 1970. 47. 10. 569.

81 - SIDDIQUE. COOPER.

Hemodinamic effect of listerial hemolysin in dogs.
Amer. J. Physiol. 1969. 216. 6. 1399- 1403.

82 - SIDDIQUE.

Cytotoxic activity of hemolysin from Listeria monocytogenes on L. M. Strain of mouse cells.
Canada J. Microbiol. 1969. 15. 8. 955-957.

83 - SIDDIQUE. YING. ROBINSON.

Hematological and febrile responses of rabbits to listerial hemolysins.
Rev. Canada. Med. Comp. 1969. 33. 4. 292-296.

84 - SIDDIQUE. SRIVASTAVA.

Cell wall and cytoplasmic components of Listeria monocytogenes.
Amer. J. veter. USA. 1973. 34. 4. 567-570.

85 - SIMPSON.

Listeria monocytogenes meningitis : an opportunistic infection.
J. Neuro. Neurosurg. Psychiastry. G. B. 1971. 34. 6. 657-663.

86 - SYRMADJIEV. IVANOV.

Essai de typage rapide et de diagnostic de Listeria monocytogenes au moyen des anticorps fluorescents.
Veter. Med. Nauki. Balg. 1972. 9. 4. 15-20.

87 - TADAYON. CARROLL. MURRAY.

Purification and properties of biologically active factors in lipids extrats of Listeria monocytogenes.
Canad. J. Microbiol. 1970. 16. 6. 535-544.

88 - TENNER. RACZ. SHEREN.

Etude en microscopie électronique de la kérato-conjonctivite due à S. flexneri et de la kérato-conjonctivite à Listeria monocytogenes. (EN RUSSE).
Arkh. Pathol. SSSR. 1970. 32. 11. 12-16.

89 - TOURAINE.

Listériose après transplantation rénale.
Nouv. Presse Méd. Fr. 1972. I. 42. 2813.

90 - TOURAINE. REVILLARD. TRAEGER.

Biologie de l'infection listérienne. Influence de l'immuno-dépression.
Nouv. Presse méd. Fr. 1972. 1. 42. 2827-2832.

91 - TRUITT. MACKANESS.

Cell-mediated resistance to aerogenic infection of the lung.
Amer. Rev. resp. Dis. USA. 1971. 104. 6. 829-843.

92 - VALLEE. GUILLON. LEVADITI. DESPIERRES.

Aspect actuel de la listériose bovine en France.
Bull. Acad. vétér. fr. Fr. 1972. 45. 6. 277-282.

93 - VELJANOV. KAMBOUROV. MANCHEVA.

Studies into the invasive capacity and intracellular multiplication of variants of Listeria monocytogenes with different degrees of virulence in cells cultures of calf kidney.
Cr. Acad. bulg. Sci. Bulg. 1972. 25. 8. 1117-1120.

94 - WELSHIMER. MEREDITH.

Listeria murrayi spin : a Nitrate-Reducing Mannitol-Fermenting Listeria.
International J. Syst. bact. USA. 1971. 21. 1. 3-7.

95 - WUILLERET. DESPRES. MONTEIRO. BOUZAKOURA. WILDI.

Contribution à l'étude du diagnostic bactériologique et histologique de la listériose à l'occasion d'une enzootie ovine.
Schweiz. Arck. Tierheilkde. 1969. 111. 11. 623-641.

96 - ZAREMBA. TOMASZEWSKI. BOROWSKI.

Anticorps à Listeria monocytogenes dans le sérum de la femme enceinte. (EN POLONAIS).
Wiadom. lek. Polska. 1972. 25. 4. 325-329.